

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID
FACULTAD DE ODONTOLOGÍA



TESIS DOCTORAL

**Medición de RANKL y OPG en fluido crevicular durante el
tratamiento de ortodoncia Invisalign®, con y sin fuerzas
intermitentes mediante AcceleDent®**

MEMORIA PARA OPTAR AL GRADO DE DOCTORA

PRESENTADA POR

Alicia Pérez Idarraga

DIRECTORAS

María Concepción Martín Álvaro
Fara Yeste Ojeda

Madrid

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID

FACULTAD DE ODONTOLOGÍA



TESIS DOCTORAL

Medición de RANKL y OPG en fluido crevicular durante el tratamiento de ortodoncia Invisalign®, con y sin fuerzas intermitentes mediante Acceleident®

MEMORIA PARA OPTAR AL GRADO DE DOCTOR

PRESENTADA POR

Alicia Pérez Idarraga

DIRECTOR

Concepción Martín Álvaro

Fara Yeste Ojeda

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID

FACULTAD DE ODONTOLOGÍA

Especialidades Clínicas Odontológicas (Ortodoncia)



TESIS DOCTORAL

*Medición de RANKL y OPG en fluido
crevicular durante el tratamiento de ortodoncia
Invisalign®, con y sin fuerzas intermitentes
mediante Acceledent®*

DIRECTORES

MARÍA CONCEPCIÓN MARTÍN ÁLVARO

FARA YESTE OJEDA

AUTOR

ALICIA PÉREZ IDARRAGA

MADRID, 2020



U N I V E R S I D A D
COMPLUTENSE
M A D R I D

**DECLARACIÓN DE AUTORÍA Y ORIGINALIDAD DE LA TESIS
PRESENTADA PARA OBTENER EL TÍTULO DE DOCTOR**

D./Dña. _____,
estudiante en el Programa de Doctorado _____,
de la Facultad de _____ de la Universidad Complutense de
Madrid, como autor/a de la tesis presentada para la obtención del título de Doctor y
titulada:

y dirigida por: _____

DECLARO QUE:

La tesis es una obra original que no infringe los derechos de propiedad intelectual ni los derechos de propiedad industrial u otros, de acuerdo con el ordenamiento jurídico vigente, en particular, la Ley de Propiedad Intelectual (R.D. legislativo 1/1996, de 12 de abril, por el que se aprueba el texto refundido de la Ley de Propiedad Intelectual, modificado por la Ley 2/2019, de 1 de marzo, regularizando, aclarando y armonizando las disposiciones legales vigentes sobre la materia), en particular, las disposiciones referidas al derecho de cita.

Del mismo modo, asumo frente a la Universidad cualquier responsabilidad que pudiera derivarse de la autoría o falta de originalidad del contenido de la tesis presentada de conformidad con el ordenamiento jurídico vigente.

En Madrid, a ____ de _____ de 20____

Fdo.: _____

Esta DECLARACIÓN DE AUTORÍA Y ORIGINALIDAD debe ser insertada en
la primera página de la tesis presentada para la obtención del título de Doctor.

AGRADECIMIENTOS

Gracias a la *Dra. María Concepción Martín Álvaro*, a la cual admiro personal y profesionalmente. Has sido un apoyo incondicional en todo este arduo proceso y sin su experiencia, sacrificio, competencia y orientación, no podría haber desarrollado esta investigación.

A la *Dra. Fara Yeste Ojeda* por tenderme su mano cada vez que lo he necesitado y por haberme iniciado en esta línea de investigación junto con la *Dra. Elena Bonilla*. Siempre admiraré su tesón y su vocación para la docencia.

Al *Dr. Miguel Lacasa Litner*, profesor desde 2012 y amigo incondicional que siempre ha mostrado una sonrisa y una enorme capacidad resolutive ante cualquier problema surgido durante el proceso, animándome con ello a seguir adelante. Gracias a tu apoyo y al del gran equipo que posees, con especial mención a *Blanca*, se me ha allanado el camino para conseguir parte de la muestra de esta investigación.

Gracias al *Dr. Alberto Cacho Casado*, a quién tuve el honor de tener como profesor en tercero de carrera y con el que he vuelto a coincidir en esta etapa. Sin tu generosidad, gestionando los pacientes no sólo en la UCM sino de tu propia clínica, no se habría podido completar el estudio.

Gracias al equipo de laboratorio de periodoncia de la UCM, en especial a *Ana, Marta y Leire* por su trabajo y profesionalidad durante este tiempo, y a su excepcional forma de ser, impregnada de cariño. Sin vosotras y personas como *Arantxa y María*, habría sido menos llevadero todo el tiempo pasado en el laboratorio.

A todos los alumnos del Máster de Ortodoncia de la UCM por ayudar en la gestión de las citas y robar vuestro tiempo destinado a la recogida de muestras de los pacientes.

Gracias a todos mis amigos y personas que me rodean a diario, pues cada uno a su manera, me ha ayudado a completar este largo proceso, en especial a *Patricia Pérez y Carlos González*, que han podido empatizar más con esta etapa y siempre han mostrado hacia mí palabras de comprensión y ánimo. A *Pili, Lola y Lara* por vuestras cálidas palabras y apoyo moral y humano, tan necesario en los momentos difíciles de este trabajo.

Gracias a toda mi familia y en especial a mis padres, *Alicia y Arturo*, y a mi hermana *Laura*, por vuestro soporte, ánimo y cariño cuando no todo iba como esperaba. Su empujón ha sido esencial para poder completar este período. Gracias *Laura y Raúl* por regalarme a *Nora* que me ha dado aún más felicidad y ganas de seguir adelante.

Gracias a *Conchi, Juan Carlos, Belén y Jose*, por hacerme sentir una más desde el principio y apoyarme incondicionalmente.

A *Carlos*, por ser mi compañero de vida, por el amor y cariño que me procesas y estar orgulloso de mí. Gracias por ayudarme en todo lo que está en tu mano y motivarme en cada proyecto que creo, es bueno para mi formación personal y profesional.

A ti, *Diego*, por haber arrojado luz en mi camino, gracias hijo.

ÍNDICE

RESÚMEN	1
ABSTRACT	7
I. JUSTIFICACIÓN	12
II. INTRODUCCIÓN	15
II.1 BIOLOGÍA DEL MOVIMIENTO DENTARIO	
II.1.1 CONTEXTO HISTÓRICO	17
II.1.2 TEORÍAS DEL MOVIMIENTO DENTARIO	19
II.1.3 FASES DEL REMODELADO ÓSEO	26
II.1.4 CÉLULAS IMPLICADAS EN EL MOVIMIENTO	29
II.1.5 MOLÉCULAS IMPLICADAS EN EL MOVIMIENTO	37
II.2 FACTORES MODIFICANTES DEL MOVIMIENTO ORTODÓNCICO	
II.3 TIPOS DE ACELERACIÓN DEL MOVIMIENTO ORTODÓNCICO	
II.3.1 QUÍMICOS O FÍSICOS	49
II.3.2 QUIRÚRGICOS	61
III. HIPÓTESIS DE TRABAJO	80
IV. OBJETIVOS	82

V. MATERIAL Y MÉTODO	84
V.1. DISEÑO DE ESTUDIO	
V.2. POBLACIÓN DE ESTUDIO	
V.2.1 CRITERIOS DE INCLUSIÓN Y EXCLUSIÓN	87
V.2.2 PRINCIPIOS ÉTICOS	88
V.3. TAMAÑO MUESTRAL Y PROCEDIMIENTO DE MUESTREO	
V.3.1. TAMAÑO MUESTRAL	90
V.3.2. PROCEDIMIENTO DE MUESTREO	90
V.4. DESCRIPCIÓN DE VARIABLES Y MÉTODO	
V.4.1 DESCRIPCIÓN DE VARIABLES	91
V.4.1.1. Material	91
V.4.1.2. Registros	96
V.4.2 MÉTODO	96
V.4.2.1 Grupos y visitas	96
V.4.2.2 Registros clínicos medidos	98
V.4.2.3 Muestras de fluido crevicular	101
V.5. ANÁLISIS ESTADÍSTICO	106
VI. RESULTADOS	107
VI.1. CARACTERÍSTICA DEMOGRÁFICAS DE LA MUESTRA	
VI.2. ESTADÍSTICA INTRAGRUPO	

VI.2.1 EVOLUCIÓN DE RANKL EN EL DIENTE EXPERIMENTAL EN CADA UNO DE LOS TRES GRUPOS	112
--	-----

VI.2.2 EVOLUCIÓN DE OPG EN EL DIENTE EXPERIMENTAL EN CADA UNO DE LOS TRES GRUPOS	116
--	-----

VI.3. ESTADÍSTICA INTERGRUPO

VI.3.1 DIFERENCIA DE MEDIAS INTERGRUPO PARA LA CONCENTRACIÓN DE RANKL	120
---	-----

VI.3.2 DIFERENCIA DE MEDIAS INTERGRUPO PARA LA CONCENTRACIÓN DE OPG	122
---	-----

VI.3.3 DIFERENCIAS INTERGRUPO ENTRE LOS CAMBIOS PRODUCIDOS EN LOS DISTINTOS MOMENTOS DE TOMA DE MUESTRA	124
---	-----

VI.3.3.1 Cambios en la concentración de RANKL intergrupo entre los diferentes momentos de toma de muestra de fluido crevicular en el diente experimental	124
--	-----

VI.3.3.2 Cambios en la concentración de OPG intergrupo entre los diferentes momentos de toma de muestra de fluido crevicular en el diente experimental	128
--	-----

VI.4 ÍNDICE GINGIVAL, ÍNDICE DE PLACA Y SANGRADO AL SONDAJE

VI.4.1 ÍNDICE GINGIVAL, ÍNDICE DE PLACA Y SANGRADO AL SONDAJE INTRAGRUPPO	133
---	-----

VI.4.2 ÍNDICE GINGIVAL, ÍNDICE DE PLACA Y SANGRADO AL SONDAJE INTERGRUPO	148
--	-----

VII. DISCUSIÓN	150
VII.1 SELECCIÓN DE LA MUESTRA	
VII.1.1 TÉCNICA DE MUESTREO	152
VII.1.2 TAMAÑO DE LA MUESTRA	153
VII.1.3 CRITERIOS DE INCLUSIÓN Y EXCLUSIÓN	155
VII.2 SELECCIÓN DE LA TÉCNICA	
VII.2.1 RECOGIDA DE MUESTRA	159
VII.2.2 TÉCNICA DE LABORATORIO. ANÁLISIS BIOQUÍMICO	161
VII.3 RESULTADOS INTRAGRUPOS	162
VII.4 RESULTADOS INTERGRUPOS	167
VII.5 OTRAS CONSIDERACIONES Y LIMITACIONES	170
 VIII. CONCLUSIONES	 176
 IX. BIBLIOGRAFÍA	 176
 X. ANEXO	 188
X. 1 APROBACIÓN DE PROTOCOLO COMITÉ DE ÉTICA	189
X. 2 HOJA DE INFORMACIÓN A PARTICIPANTES Y CONSENTIMIENTO INFORMADO	190
X. 3 CUESTIONARIO Y CUADERNO DE RECOGIDA DE DATOS	196
X. 4 ARTÍCULO	199
X. 5 CONCESIÓN DE BECA JUAN CANUT SEDO 2017	200

RESUMEN

Introducción

El movimiento ortodónico es inducido por estímulos mecánicos y facilitado por la remodelación del ligamento periodontal y el hueso alveolar. Una condición necesaria para estas acciones de remodelación ósea, y para el consecuente movimiento dentario, es la aparición de un proceso inflamatorio.

Los principales mediadores que regulan el remodelado óseo durante el tratamiento de ortodoncia son la Interleucina 1β (IL- 1β), Factor de Necrosis Tumoral (TNF), Receptor Activador de factor nuclear Kappa B Ligando (RANKL), Receptor Activador de factor nuclear Kappa B (RANK) y Osteopregerina (OPG) (Kawasaki K et al., 2006, Florez-Moreno G et al., 2012, D'Apuzzo F et al., 2013).

Debido a la cada vez mayor presencia de pacientes adultos en Ortodoncia, una de las mayores inquietudes y demandas de nuestro tiempo es el interés por reducir los tiempos de tratamiento mediante la aceleración del movimiento dentario pues conlleva una serie de ventajas tanto para el paciente como para el profesional (Ryuji S et al., 2012b, Buschang P et al., 2012).

Se han experimentado diversas técnicas para acelerar el movimiento dentario: inyección de fármacos (Krishnan V and Davidovitch Z, 2009); terapias génicas (Iglesias-Linares A et al., 2011); aplicación de campos electromagnéticos o iontoforesis; estímulos vibratorios que aceleren la activación de tejidos periodontales (Ali Darendeliler M et al., 2007, Limpanichkul W et al., 2006, Murphy N et al., 2012); decorticaciones alveolares o corticotomías (Murphy N et al., 2012); variación en la intensidad de las fuerzas aplicadas (Van Leeuwen E et al., 2010); láseres de baja intensidad (Limpanichkul W et al., 2006, Yoshida T et al., 2009, Yamaguchi M et al., 2007, Fujita S et al., 2008) ; y distracción osteogénica alveolar (Nishimura M et al., 2008).

El uso de fuerzas intermitentes mediante vibración es quizás uno de los sistemas más fáciles de aceptar y llevar a cabo por el paciente.

Objetivos

Objetivo general:

Analizar la relación entre la aplicación de fuerzas vibratorias intermitentes y los niveles de RANKL y OPG en fluido crevicular en pacientes con tratamiento de ortodoncia.

Objetivos específicos:

1. Comparar los niveles de RANKL y OPG en fluido crevicular, antes de iniciar el tratamiento ortodóncico y en distintos momentos tras iniciar el movimiento, en un grupo de pacientes tratados con alineadores transparentes (Invisalign®).
2. Comparar los niveles de RANKL y OPG en fluido crevicular, antes de iniciar el tratamiento ortodóncico y en distintos momentos tras iniciar el movimiento, en dos grupos de pacientes tratados con Acceledent® mediante la técnica de alineadores transparentes (Invisalign®).
3. Determinar las posibles diferencias de concentración entre los tres grupos y detallar su posible significado, comparando el uso o no uso de Acceledent® y los distintos tiempos de uso de los alineadores durante distintos momentos del tratamiento.

Material y método

La muestra de este ensayo clínico aleatorizado con diseño cruzado, estuvo compuesta por 45 pacientes divididos en tres grupos (un grupo control y dos grupos experimentales) de 15 sujetos cada uno. Fue un diseño a simple ciego, ya que únicamente la persona que analizaba las mediciones desconocía el grupo al que pertenecían los pacientes.

Cada grupo experimental utilizaba Acceleident® junto con el sistema de ortodoncia de alineadores transparentes (Invisalign®), en un momento distinto del tratamiento, cambiándose los alineadores en la fase de estudio cada 7 días en vez de cada 14. El grupo control, cambiaba los alineadores cada 7 días durante la fase de estudio de grupo A y grupo B, sin uso de vibración.

Se tomaron en cada visita estipulada, muestras de fluido crevicular (n=210) y se analizaron a través de Kit de ELISA (Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay) para RANKL soluble de Mybiosource® con sensibilidad de 0,28 ng/l y para OPG de Elabscience® con una sensibilidad de 0,10 ng/ml.

Resultados

No se obtuvieron resultados estadísticamente significativos en ninguno de los grupos ni en los diferentes momentos de toma de registros de fluido crevicular ni para RANKL ni para OPG. Sin embargo, si hubo una tendencia de aumento o disminución de las concentraciones de los biomarcadores en los resultados intergrupo e intragrupo.

La vibración produciría un aumento de RANKL y disminución de OPG. El cambio de alineadores sin la utilización de dispositivos vibratorios cada 7 días promovería la osteoclastogénesis a partir de las 4 semanas tras el inicio del movimiento dentario,

siendo necesario al comienzo un cambio de alineador cada 14 días ya que, entre los grupos estudiados, se observó un aumento de RANKL sin la utilización de vibración las primeras cuatro semanas en el grupo B respecto al C y una disminución en ese mismo grupo respecto al C tras las primeras cuatro semanas. La disminución en el grupo B de RANKL de las 4-6 semanas, podría deberse a la unión en este periodo a RANK y el aumento de OPG al comienzo de aposición ósea.

Conclusiones

1. Aplicar una fuerza intermitente vibratoria mediante Acceledent®, no aumenta de manera estadísticamente significativa los niveles de RANKL y OPG en fluido crevicular en pacientes con tratamiento de ortodoncia mediante alineadores transparentes (Invisalign®).

2. Aun sin encontrar diferencias significativas, la tendencia de RANKL es a aumentar cuando se utiliza Acceledent® y disminuir la concentración de OPG.

3. El uso de vibración desde el inicio del tratamiento aumenta más los niveles de RANKL que una vez instaurado el movimiento. De igual forma ocurre con OPG, la cual es la menor de todos los grupos si se comienza desde el inicio el uso de vibración.

4. Sin el uso de dispositivos de vibración, es más favorable a la osteoclastogénesis el cambio de alineadores cada 14 días las primeras 4 semanas desde el inicio del tratamiento mediante alineadores transparentes (Invisalign®) que cada 7 días. A partir de las 4 semanas, el cambio semanal favorecería el mantenimiento de los niveles de concentración de RANKL.

5. Los niveles de OPG son mayores con el cambio de alineador cada 14 días y en las primeras 6 semanas de movimiento sin vibración, porque hay más tiempo para que se

de comienzo a la aposición ósea. El uso de vibración hace que los niveles de OPG disminuyan favoreciendo la osteoclastogénesis.

ABSTRACT

Introduction

The orthodontic tooth movement (OTM) is induced by mechanical stimulus and facilitated by the remodeling of the periodontal ligament and the alveolar bone. A necessary condition for these actions of bone remodeling, and for the consequent tooth movement, is the appearance of an inflammatory process.

The main mediators that regulate this process of bone remodeling during orthodontic treatment are Interleukin 1 β (IL-1 β), Tumor Necrosis Factor (TNF), Activator Receptor of nuclear factor Kappa B Ligand (RANKL), Nuclear Factor Activating Receptor Kappa B (RANK) and Osteoprotegerin (OPG) (Kawasaki K et al., 2006, Florez-Moreno G et al., 2012, D'Apuzzo F et al., 2013).

Due to the increasing presence of adult patients in orthodontics, one of the main concerns and demands of our time is the interest in reducing treatment times by accelerating OTM. This is due to the numerous advantages that this could bring to the orthodontist and the patient (Ryuji S et al., 2012, Buschang P et al., 2012).

So far, several techniques have been experimented to accelerate OTM: injection of drugs (Krishnan K and Davidovitch Z, 2009); gene therapies (Iglesias-Linares A et al., 2011); application of electromagnetic fields or iontophoresis apparatus; vibratory stimulus that accelerate the activation of periodontal tissues (Ali Darendeliler M et al., 2007, Limpanichkul W et al., 2006, Murphy N et al., 2012); alveolar decortications or corticotomies (Murphy N et al., 2012); variation in the intensity of the applied forces (Van Leeuwen E et al., 2010); low intensity lasers (Limpanichkul W et al., 2006, Yoshida Y et al., 2009, Yamaguchi M et al., 2007, Fujita S et al., 2008); and alveolar osteogenic distraction (Nishimura M et al., 2008).

The use of intermittent forces by vibration is perhaps one of the easiest systems to accept and carry out by the patient.

Objetives

General objective:

Analyze the ratio between the application of intermittent vibratory forces and the levels of RANKL and OPG in saliva and crevicular fluid in patients with orthodontic treatment.

Specific objectives:

1. Compare RANKL and OPG levels, in saliva and in crevicular fluid, before initiating orthodontic treatment and at different times after starting the movement, in a group of patients treated with clear aligners (Invisalign®).
2. Compare RANKL and OPG levels, in saliva and in crevicular fluid, before initiating orthodontic treatment and at different times after initiating OTM, in two groups of patients treated with AcceleDent® using the clear aligners (Invisalign®).
3. Identify possible differences in concentration between the three groups and analyze their root-cause, comparing the use or non-use of AcceleDent® and the different times of use of the aligners during different moments of the treatment.

Materials and methods

The sample of this randomized clinical trial with crossed and parallel design, is composed of 45 patients. All patients were divided into three groups (a control group and two experimental groups) of 15 subjects. It was a simple blind design, since who analyzed the measurements didn't know the group to which the patients belonged to.

Each of the groups used Acceledent® together with the Invisalign® orthodontic system, at one point of the treatment, changing the aligners in the study phase every 7 days instead of every 14. The control group changed the aligners every 7 days during the study phase of group A and B, without use of vibration.

Crevicular fluid samples (n=210) were taken at each stipulated visit and analyzed using the ELISA Kit (Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay) for soluble Mybiosource® RANKL with a sensitivity of 0.28 ng / l and for Elabscience® OPG with a sensitivity of 0,10 ng / ml.

Results

No statistically significant results were obtained in any of the groups or at different times of taking crevicular fluid records for either RANKL or OPG. However, if there was a tendency to increase or decrease biomarker concentrations in intergroup and intragroup results.

The vibration would produce an increase in RANKL and a decrease in OPG. The change of aligners without the use of vibratory devices every 7 days would promote osteoclastogenesis from 4 weeks after the beginning of the dental movement, being necessary at the beginning a change of aligner every 14 days since, among the groups studied, it was observed an increase in RANKL without the use of vibration the first four

weeks in group B respect to C and a decrease in that same group with respect to C after the first four weeks. The decrease in group B of RANKL of 4-6 weeks, could be due to the link in this period to RANK and the increase of OPG at the beginning of the bone apposition.

Conclusions

1. Applying an intermittent vibratory force using AcceleDent® does not statistically significantly increase the levels of RANKL and OPG in crevicular fluid in patients with orthodontic treatment using clear aligners (Invisalign®).

2. Even without finding significant differences, the tendency of RANKL was to increase when using AcceleDent®. OPG concentration tended to decrease.

3. The use of vibration from the beginning of the treatment, increased the levels of RANKL more than once the movement is established. The same happened with OPG, which was the lowest of all groups if the use of vibration is started from the beginning.

4. Without the use of vibration devices, it is more favorable for osteoclastogenesis to change the aligners every 14 days the first 4 weeks after the start of treatment than every 7 days. After 4 weeks, the weekly change would favor the maintenance of the concentration levels of RANKL.

I. JUSTIFICACIÓN

Todo profesional que se dedique diariamente a la ortodoncia y, por tanto, al movimiento dentario, debería tener claro el proceso biológico que se produce durante el mismo para entender lo que ocurre en cada una de las etapas y poder influir en alguna de las mismas con el fin último de beneficiar al paciente.

El ortodoncista, por esta razón, debe conocer todo el entramado del movimiento dentario y los diferentes métodos estudiados para promover una posible aceleración del mismo. Partiendo de la base de que la biología del movimiento dentario ha sido bien estudiada, pero muchos de los mecanismos y cascadas de actuación aún no se conocen, es difícil discernir si toda la aparatología actual que encontramos en el mercado asegurando la disminución de los tiempos de tratamiento, realmente lo promueven. Esto junto a la dificultad y tiempo de estudio en humanos ha provocado mucha experimentación in vitro que no es extrapolable en muchos de los casos, a los pacientes que atendemos a diario. Así pues, los mecanismos de actuación de esta aparatología y su reflejo en nuestro organismo deberían ser estudiados.

Además, en nuestro campo, cada vez son más comunes los pacientes adultos que acuden a la consulta de ortodoncia demandando la solución a sus problemas bucales en el menor tiempo posible, lo que ha llevado al comienzo del estudio de técnicas que acelerasen el movimiento dentario. Por otro lado, son conocidas las patologías que se asocian a tiempos de tratamiento ortodóncico prolongado tales como episodios de gingivitis, caries, reabsorciones radiculares o descalcificaciones del esmalte que en ocasiones nos obligan a suspender los tratamientos de forma temporal o permanente.

Ya sea como causa o consecuencia tanto de las inquietudes de los pacientes como de la de los profesionales que les atendemos, la realidad es que la disminución del tiempo de tratamiento provocaría un menor impacto en la calidad de vida del paciente y en su

estética facial además de disminuir las consecuencias anexas comentadas con anterioridad. Asimismo, el ortodoncista obtendría mayor dinamismo en sus consultas.

Debido a todo ello es necesario conocer si es posible aplicar métodos como la aplicación de fuerzas intermitentes mediante vibración para lograr la aceleración del movimiento dentario, así como su mecanismo de acción. Este método es menos invasivo para el paciente que otros, como las corticotomías y podría facilitar el uso cotidiano del mismo sin la necesidad de otro compañero para su realización y sin asociar efectos adversos que disminuyan la calidad de vida del paciente.

Según Nishimura M et al. en 2008, sí que existe una aceleración del movimiento a través de dispositivos de vibración. Sin embargo, sería conveniente conocer si existe en humanos la misma relación entre la aplicación de las fuerzas intermitentes vibratorias, la estimulación celular del ligamento periodontal y la aceleración del movimiento dentario, ya que los estudios examinados hasta la actualidad miden principalmente el grado de movimiento en un tiempo dado.

Este proyecto forma parte del comienzo de una línea de investigación sobre aceleración del movimiento dentario llevada a cabo en el Departamento de Especialidades Clínicas Odontológicas (sección de Ortodoncia) de la Facultad de Odontología de la UCM, donde se pretende proseguir con otros estudios que analicen los mismos parámetros con otros métodos de aceleración vigentes en el mercado.

II. INTRODUCCIÓN

II.1 BIOLOGÍA DEL MOVIMIENTO DENTARIO

II.1.1 CONTEXTO HISTÓRICO

II.1.2 TEORÍAS DEL MOVIMIENTO DENTARIO

II.1.3 FASES DEL REMODELADO ÓSEO

II.1.4 CÉLULAS IMPLICADAS EN EL MOVIMIENTO

II.1.5 MOLÉCULAS IMPLICADAS EN EL MOVIMIENTO

II.2 FACTORES MODIFICANTES DEL MOVIMIENTO ORTODÓNCICO

II.3 TIPOS DE ACELERACIÓN DEL MOVIMIENTO ORTODÓNCICO

II.3.1 QUÍMICOS O FÍSICOS

II.3.2 QUIRÚRGICOS

II.1 BIOLOGÍA DEL MOVIMIENTO DENTARIO

II.1.1 CONTEXTO HISTÓRICO

La biología del movimiento dentario es la base de conocimiento que todo ortodoncista debería comprender. El hecho de que los investigadores centren sus estudios en el proceso biológico que se produce como consecuencia de la aplicación de fuerzas ortodóncicas, ayudará en el futuro a mejorar la eficiencia de nuestros tratamientos. Por lo tanto, la interacción entre investigadores y clínicos proveerá al paciente de nuevas tecnologías que mejoren su calidad de vida durante el tratamiento y disminuya el impacto en su día a día.

Las referencias más destacadas respecto al tema se remontan a 1880 en el que Kingsley N aseguraba que el movimiento de los dientes era el resultado de la elasticidad del hueso alveolar (Kingsley N, 1880). Más tarde se añadió el concepto de aposición/reabsorción ante la inclinación en el hueso alveolar (Farrar J, 1888). En 1904, como resultado del estudio histológico de los tejidos que rodean a un diente movido ortodóncicamente, se introdujo el concepto de reabsorción subyacente que se producía en el lado de presión cuando se aplicaban fuerzas intensas y fue el primero en definir un lado de presión y otro de tensión tras a aplicación de fuerzas ortodóncicas (Sandstedt C, 1904). Tres años más tarde, afirmaron que la reabsorción ósea precedía al movimiento dentario y la aposición se producía tras él, pero el mecanismo principal seguía siendo la deflexión o inclinación del hueso alveolar (Angle E, 1907). No fue hasta 1926 y 1932 cuando se propusieron los primeros estudios en los que se discutía la redistribución del patrón trabecular del hueso alveolar ante la fuerza de ortodoncia (Johnson A, 1926; Herzberg B, 1932). En el mismo año, 1932, se define la unidad alveolodentaria como un sistema hidrostático continuo sometido a las leyes de Pascal. Además, se llegó a la conclusión de

que una fuerza intensa puede conducir a la obliteración de los vasos sanguíneos, necrosis del tejido y enlentecimiento del movimiento (Schwarz M, 1932). En 1944, definieron el movimiento dentario fisiológico a lo largo de la vida comparándolo con el ortodóncico (Sicher H, 1944). Ya en 1953, se reafirmaron de forma más detallada las teorías de Farra/Sandstedt, definiendo además, varias áreas de actividad alrededor de un diente en el que hay hueso nuevamente formado en el lado de tensión y reabsorción en el lado de presión (Chaqués Asensi J, 1998a).

En base a los resultados anteriores de Reitan K et al. (1971), en el que observaron una relación directa entre magnitud de fuerza y respuesta del tejido circundante, se clasificaron las fuerzas en bioelásticas, bioplásticas y biodisruptivas. Las primeras, son fuerzas ligeras que solo distorsionan el tejido, las segundas producen más movimiento sin dañar el mismo y las últimas producen ya daño tisular en alguna de sus partes. El común denominador de la clasificación de fuerzas se encontró en la inflamación que rodea todo el proceso (Krishnan K y Davidovitch Z, 2009).

La teoría que se manejó en principio fue la *teoría clásica*. Radica en que ante una fuerza de ortodoncia transmitida a la membrana periodontal y al hueso alveolar generaría un lado de presión y otro de tensión dentro de la unidad periodontal. En el lado de presión se produciría una compresión de la membrana periodontal y de los vasos sanguíneos que estimularía la actividad de reabsorción ósea. Por otro lado, en la zona de tensión el estiramiento de las fibras colágenas activaría a los osteoblastos y tendría lugar la aposición ósea subsecuente. El movimiento dentario sería el resultado de los dos procesos. En esta teoría se considera que el proceso alveolar tiene una función estática, pero como ya habían propuesto autores anteriores, la elasticidad del proceso alveolar sería un factor fundamental a tener en cuenta en todo este sistema. Además, existía una relación directa entre la magnitud de la fuerza y su efecto en la magnitud del movimiento. Cuando

la fuerza es ligera, se produce una oclusión parcial de los vasos sanguíneos, siendo compatible con la supervivencia celular de la membrana periodontal, las cuales acceden al hueso y producen la reabsorción del mismo (reabsorción ósea directa). Por el contrario cuando se excede la fuerza, se produce la obstrucción total del flujo sanguíneo, dando lugar a necrosis de los elementos celulares de la membrana periodontal, proceso al que se le llama hialinización. A partir de este momento se produce una reabsorción ósea diferida desde las células del hueso alveolar subyacente. Es lo que Reitan denominó reabsorción ósea indirecta (Chaqués Asensi J, 1998a).

II.1.2 TEORÍAS DEL MOVIMIENTO DENTARIO

Para que se produzca el movimiento es necesario conocer los elementos de la unidad alveolodentaria que los forman: hueso alveolar, membrana periodontal, la raíz del diente, el soporte gingival y el plexo vasculonervioso. El *hueso alveolar* está compuesto por una fracción celular (osteocitos y osteoblastos de recubrimiento) y matriz extracelular (fracción mineral-cristales de hidroxapatita-y matriz orgánica). La matriz orgánica se compone en orden decreciente de colágeno (70% y mayor proporción de tipo I), agua, proteínas no colágenas (5%-fosfoproteínas, osteonectina, Gla proteína, proteoglicanos y proteolípidos) y otros componentes orgánicos. La *membrana periodontal* está compuesta por fibras de colágeno, que proporcionan la unión del diente al hueso. Contiene células mesenquimales indiferenciadas o pobremente diferenciadas y las células derivadas de las mismas, fibroblastos y osteoblastos. La adrenalina en esta zona provoca un movimiento extrusivo rápido e incremento de la presión sanguínea. Con la noradrenalina hay un movimiento extrusivo rápido también con un incremento de la presión sanguínea pero la subsiguiente intrusión y disminución de la presión sanguínea (Mérida I, 2011). El

movimiento en *el hueso y el cemento* se produce mediante los osteoclastos y los cementoclastos de origen hematopoyético (línea de los monocitos). También en la membrana periodontal están los elementos vasculares y las terminaciones nerviosas libres no mielinizadas, encargadas de la sensibilidad nociceptiva (dolor), y las terminaciones algo mas complejas, como la propiocepción y la presorrecepción. Además en esta membrana observamos fluido intersticial y sustancia intercelular (Chaqués Asensi J, 1998a).

El cemento radicular no posee vascularización, su capacidad de remodelación es escasa y su turnover metabólico es más bajo que el de otras estructuras conjuntivas del hueso alveolar o de la membrana periodontal (Chaqués Asensi J, 1998a).

A partir del conocimiento básico de las estructuras que forman parte de este proceso, podemos entender las teorías que se han ido desarrollando para explicar cómo a partir de una fuerza, el diente se mueve.

A) LA UNIDAD ALVEOLODENTARIA COMO SISTEMA HIDROSTÁTICO.
MECÁNICA DE FLUIDOS: Schwarz M (1932) confirmó que cualquier fuerza aplicada a la membrana periodontal es transmitida por igual a toda su superficie y al hueso alveolar que lo circunda. Según esta teoría toda la superficie alveolar en contacto con la membrana periodontal recibe una misma cantidad de fuerza, independientemente de cual sea la dirección de aplicación de la misma. Tampoco existiría un lado que reciba presión hidrostática positiva (presión) o negativa (tensión). A lo largo de los años ésta teoría ha evolucionado de manera que ante una fuerza ortodóncica se produce un desplazamiento radicular que provoca una deformación de la membrana periodontal, una alteración de las células y la matriz y del plexo vasculonervioso. Por otro lado, la deflexión del hueso alveolar, provoca una redistribución del fluido crevicular ya que la unidad alveolodentaria no es un sistema hisdrostático continuo y cerrado, produciendo un lado con presión

hidrostática positiva y otra negativa. Por tanto, el fluido intersticial actúa de dos maneras: la primera produciendo dos polos por el movimiento del fluido intersticial, y la segunda generando como consecuencia una cascada de procesos bioquímicos que activan a todas las células circundantes tanto de la membrana periodontal como del hueso alveolar (Chaqués Asensi J, 1998b).

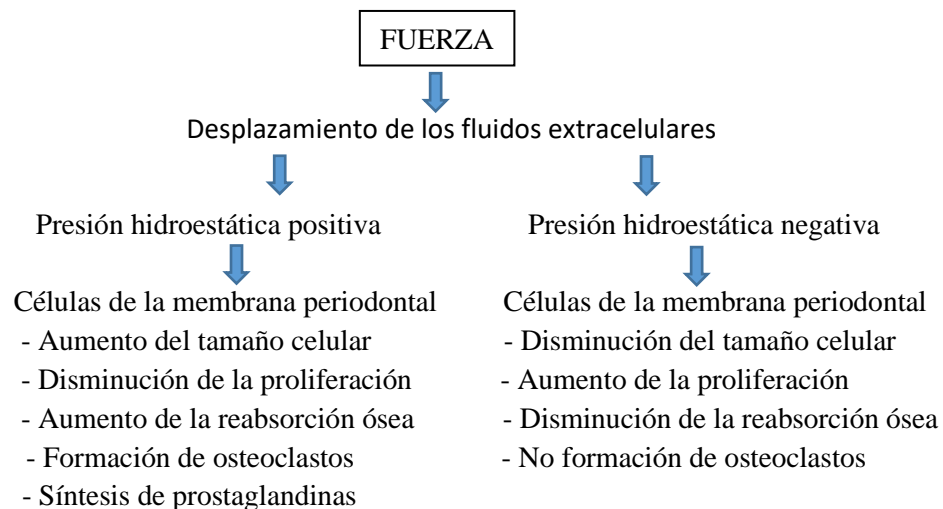


Figura 1. Mecánica de fluidos (Chaqués Asensi J, 1998b)

B) FENÓMENOS ELÉCTRICOS Y REMODELAMIENTO ÓSEO: Se ha observado la relación de formación ósea con la aplicación de una corriente continua en el hueso, existiendo una curva dosis-respuesta. También se ha utilizado potenciales eléctricos exógenos como campos electromagnéticos para desvelar sus efectos en el estímulo del metabolismo óseo y sus posibles aplicaciones terapéuticas. Existen tres tipos de potenciales endógenos en el hueso: 1. El potencial generado por el estrés mecánico, 2. Potenciales iónicos generado por el flujo de fluidos, 3. Alteraciones del potencial de reposo de las células. El *estrés mecánico* ha sido explicado a través de la piezoelectricidad. Este es el fenómeno eléctrico que se produce al comprimir un cristal, por tanto los cristales de hidroxiapatita son capaces de producir potenciales eléctricos en

la remodelación ósea tras su compresión aunque también se ha observado la generación de dichos potenciales por la matriz orgánica del hueso, mas específicamente por el colágeno. Por tanto los potenciales eléctricos encontrados en el hueso tras el estímulo mecánico podría tener su origen tanto en la fracción mineral como en la matriz orgánica del hueso (Chaqués Asensi J, 1998b).

Todo este potencial eléctrico no solo se observa en estos dos lugares sino también en las células y fluido intersticial. Los estudios demuestran que cualquier *macromolécula con carga eléctrica que se desplaza* por el interior de un canal crea a su paso un campo eléctrico a ambos lados de la pared del mismo. Por lo tanto, además de la génesis de presión hidrostática, el desplazamiento del fluido intersticial podría dar lugar a campos eléctricos derivados del flujo iónico que conlleva (Chaqués Asensi J, 1998b).

La polaridad de la célula está relacionado con la función que realiza y su grado de electronegatividad está relacionado directamente con el grado de actividad metabólica, siendo negativo cuando hay un estímulo externo que promueve la remodelación. Davidovitch Z et al. (1984) ya promovía el uso de campos eléctricos de baja intensidad como aplicación clínica en la estimulación del remodelado óseo. Tras ello, todos los estudios se centran en los osteoblastos, fibroblastos y monocitos, ya que son las células mas afectadas por este tipo de estímulo. Es necesario un estudio mas a fondo sobre la actuación de los monocitos y la liberación por su parte de citoquinas que promueven todo el proceso. Hasta el momento se sabe que se produce una modificación de los flujos de calcio a través de la membrana plasmática, que promoverá una alteración del flujo iónico a través de la célula y se convertirá en un factor coadyuvante o desencadenante de la activación bioquímica que conduce al remodelamiento óseo. Esta alteración del flujo iónico de la célula provoca un cambio en las características de la membrana celular, en

actividad de la fosfatasa alcalina, cambios en la forma de la célula y cambios en el rango de la división celular (Chaqués Asensi J, 1998b).

Con esta carga, los potenciales bioeléctricos producidos provocan a su vez potenciales piezoeléctricos por compresión de FRACCIÓN MINERAL ósea/deformación de la MATRIZ DE COLÁGENO de membrana periodontal y hueso alveolar. Por otro lado, los potenciales iónicos van a provocar un flujo de fluido intersticial en el compartimento periodontal y en las trabéculas de hueso adyacente. Todo ello altera las glucoproteínas de membrana encargadas del flujo iónico de calcio al interior de la célula y una respuesta bioquímica. No se conoce la célula diana, pero sí se produce este mecanismo en; hueso alveolar, fibroblasto, osteoclasto, línea celular macrófago-monocitario. Diferentes estudios sobre la célula diana señalan al monocito como una de ellas. Esta célula, que se conoce por su capacidad fagocitaria y secreción de mediadores a nivel local y a distancia, tienen una actividad inflamatoria e inmunológica. Además, liberan citoquinas tras 7 días de aplicar la fuerza, llenando los canales entre la membrana periodontal y el hueso alveolar y se observa aposición/reabsorción. Son las modificaciones *mecánicas* de la lámina periodontal y el potencial *bioeléctrico* del entorno los que producen la estimulación de terminaciones nerviosas y neuropéptidos (VIP, CGRP, sustancia P) que almacenan. Todo ello produce una activación de la reacción inflamatoria (vasodilatación, aumento de permeabilidad vascular, extravasación de plasma y salida de células-PMN y macrófagos- al espacio intersticial) y la liberación de *citoquinas* (mediador de respuesta inflamatoria). Davidovitch Z et al. (1984) en sus investigaciones observó citoquinas en los canales y fluido del surco gingival siendo las células diana susceptibles a este efecto, los fibroblastos y osteoclastos. La mediación de citoquinas y la síntesis de prostaglandinas se realiza a través de la señalización de los fosfolípidos de la membrana celular. Las prostaglandinas tienen como precursor el ácido

araquidónico activado por la cicloxigenasa, que a su vez depende intrínsecamente de los fosfolípidos de membrana a través de la fosfolipasa A. Tanto las prostaglandinas como las citoquinas, que producen prostaglandinas por la vía del ácido araquidónico actúan sobre las células diana, mayoritariamente osteoclastos y fibroblastos y promueven la reabsorción ósea y el movimiento dentario (Chaqués Asensi J , 1998c; Davidovitch Z, 1984).

En cuanto a la respuesta bioquímica, se sabe que ante un estímulo (fuerza mecánica), es codificado provocando una respuesta biomecánica y bioeléctrica, que a su vez provoca una respuesta bioquímica. La transducción se define como el paso de energía mecánica a una señal biológica que implica la remodelación ósea (Chaqués Asensi J, 1998c).

Burger E et al. (1996) estudiaron que la tensión del fluido extracelular provocaba que el osteocito se diferenciase a osteoblasto u osteoclasto actuando así sobre el hueso y membrana periodontal, iniciando el proceso. Afirmaban que el flujo del fluido intersticial actuaba sobre la matriz no mineralizada (colágeno de la membrana periodontal) y activaba la cascada del remodelamiento óseo (Burger E, 1996).

Snowdowne K et al. (1996) creían que ante una fuerza ortodóncica hay una molécula transductora que provoca una señal biológica que permite la remodelación ósea. Esa molécula actúa haciendo permeables los canales de calcio y esa entrada a través de los canales aumenta el calcio intracelular alterando la adenil-ciclasa (AMPc) y produciendo la activación celular, pero hasta aquí ningún autor explica el mecanismo íntimo por el que el estímulo mecánico produce una alteración del flujo iónico (Chaqués Asensi J, 1998a; Snowdowne K, 1996).

C) TEORÍA BIFÁSICA: Teoría basada en unificar conceptos previos en los que se comprendía el movimiento como escenas aisladas en las que cada célula en cada zona hacía una determinada función. Así los osteoclastos aumentaban su actividad en la zona de compresión o los osteoblastos en la de tensión o la respuesta catabólica o anabólica ocurría independientemente en cada una de las zonas de ligamento periodontal (PDL) sin conexión entre ellas.

Es conocido por los cortes histológicos estudiados, que los osteoclastos se encuentran en ambos lados y que tras una fuerza, hay un traumatismo del PDL que provoca una respuesta generalizada. Aunque la fase anabólica y catabólica ocurre alrededor de todo el diente, independientemente de la dirección de la fuerza, si es cierto que ambas fases no ocurren simultáneamente. Primero se produce la fase catabólica, como se demuestra por la expresión elevada de marcadores de los osteoclastos en el inicio del movimiento y en un segundo lugar, la fase anabólica por los marcadores osteogénicos estudiados en fases tardías del movimiento. Según esta teoría, tras la aplicación de una fuerza se daña el PDL que rodea todo el diente, se crea una fase catabólica protagonizada por los osteoclastos en todo el perímetro dental, seguida de una fase anabólica que regenera todo el tejido reabsorbido en el diente. La teoría Bifásica podría ser desmentida por estudios histológicos, aunque estos solo observan el proceso a nivel estático y no representa el fenómeno dinámico.

Además, como mas adelante se comentará, numerosos estudios demuestran la relación entre la activación de osteoclastos y como su función atrae a los osteoblastos a la zona reabsorbida (Alikhani M, 2017a).

II.1.3 FASES DEL REMODELADO ÓSEO

Respecto al remodelado óseo se pueden distinguir tres fases. La primera de ellas es la *fase de activación* en la que la inducción a la reabsorción se produce tras el reclutamiento de las células precursoras de osteoclastos (PMN) 1 o 2 días antes de la aparición de osteoclastos -OC- y duplicándose la cantidad de PMN en la zona donde se va a remodelar hueso (Beerntsen BT et al., 1997). Todo ello se promueve por el flujo de fluido en el ligamento periodontal pudiendo haber una deformación celular indirecta (Davidovitch Z, 1991). Es entonces donde se reconoce la superficie ósea a reabsorber, hay una retracción de osteoblastos y aposición de los precursores de osteoclastos. Posteriormente se adhieren células mononucleares a esa zona, se fusionan dando lugar a células gigantes mononucleadas. Esta fase es llamada también inicial y se produce 24 horas-2 días tras aplicar la fuerza en el que hay una flexión del hueso alveolar (Florez-Moreno G et al., 2012). De 3 a 4 días después de la inducción, el OC maduro aparece en la zona. La segunda *fase es la de reabsorción* en la que se estabilizan el número de osteoclastos e incluso disminuye la tasa de desplazamiento. Esta fase es también llamada la *fase de latencia* que ocurre a los 4-20 días tras la aplicación de la fuerza y dónde (Florez-Moreno G et al., 2012), se reconoce el foco a reabsorber y se adhieren los OC a la membrana celular por su morfología rugosa. A partir de aquí comienza la reabsorción de la fracción mineral, la matriz orgánica y los elementos celulares. La fracción mineral inicia el proceso debido a la secreción de ácidos por parte de los OC, por los que disminuye el Ph. Esta disminución de Ph produce una bomba de protones en borde rugoso de OC, aparición de enzimas adenosín trifosfato (ATPasas) y el grado de acidificación es proporcional al grado de liberación de calcio. La matriz orgánica necesita como factor principal la collagenasa (colágeno como componente principal) para promover el proceso, pero se ha visto que el OC no posee la capacidad de producir collagenasa, solo enzimas

lisosómicas, entre ellas la fosfatasa ácida. El OC tampoco posee receptores para la hormona paratiroidea (PTH), una de las mayores promotoras de la reabsorción ósea, en cambio el osteoblasto-OB- sintetiza colagenasa y tiene receptores en su superficie para PTH. Se ha postulado que los OC y sus enzimas lisosómicas son esenciales para la liberación de la matriz mineral y su relación por tanto con la reabsorción, aunque su acción directa sobre el colágeno y PTH está descartado. La colagenasa por otro lado se sintetiza de novo y no se encuentra almacenada. Las células que la sintetizan son OB, preOB y células osteoprogenitoras. Es activada por PTH en la proteólisis o por autoactivación. Por un lado, en el espacio extracelular hay una degradación del colágeno por enzimas proteolíticas- metaloproteinasas de la matriz ósea (MMP1), la colagenasa de OB o fibroclastos. Por otro, en el espacio intracelular, el colágeno es fagocitado por fibroblastos y degradado por lisozimas- MMP2. Todo ello lleva a la activación de citoquinas, aumento de prostaglandinas (PGE-2) y a la activación de linfocitos por parte del factor activador de osteoclastos (OAF). Se sabe que, si no aparece el OB, no se activan los OC, pero sin OC no se termina de reabsorber hueso por lo que existe una sinergia celular. La tercera *fase es llamada de reversa o aceleración* ya que es aquella en la que se finaliza la reabsorción y se empieza a formar hueso nuevo para llegar a la fase de reposo o lineal a los 40 días tras el movimiento en el cual aún sigue habiendo movimiento (Florez-Moreno et al., 2012). Los PMN son los responsables de la adhesión de OB. (Chaqués Asensi J, 1999; Henneman S et al.; 2008, Vansant L et al., 2018).

Se puede distinguir por tanto, una fase de latencia en el que aparecen los mediadores de la inflamación tras aplicar una fuerza, una estimulación de la matriz extracelular representada principalmente por la conexina, dos días después y hasta dos semanas, la activación celular y diferenciación de osteoblastos y osteoclastos a través de citoquinas, factores de crecimiento y óxido nítrico, una siguiente fase en la que se

diferencian los osteoclastos dependiendo de la ecuación ligando receptor activador para el factor nuclear $K\beta$ / osteoprotegerina (RANKL/OPG), la degradación de los osteoides no mineralizados y unión de osteoclastos a través de la osteopontina (OPN). A su vez, desde el primer día hasta el día 12, comienza la formación ósea en el área de tensión a través de la activación de osteoblastos por parte del factor de osteogénesis osterix (OSX), a osteocalcina (OCN) y el factor de transcripción RUNX2 y RUNX3. Existe a posteriori una degradación de la matriz extracelular por las catepsinas y MMPs producidas por fibroblastos y osteoblastos, y la formación de una nueva matriz extracelular durante el remodelado de estructuras periodontales con la actividad del $TGF\beta$, periostina y endotelina (Vansant L et al., 2018).

Alguna de las sustancias que controlan la remodelación ósea son: la PTH, la vitamina D, las prostaglandinas, el factor activador de osteoclastos (AOF) y factores que inhiben la actividad de OC.

Respecto a la *PTH* se sabe que es una hormona sobre la cual se requiere alta concentración para poner en marcha el proceso, pero no para su continuidad. Aumenta la producción de enzimas lisosómicas y la liberación de la collagenasa y el ácido hialurónico. Además, los OB como se ha comentado, tienen receptores para PTH pero no así los OC (acción indirecta sobre OC). La PTH junto con factores reguladores sistémicos y locales, aumentan la concentración intracelular de AMPc activando PG y OC e induciendo la retracción del citoplasma del OB permitiendo la adhesión de OC. En la actualidad el estudio está enfocado al sinergismo entre PTH e IL-1, citoquina que produce reabsorción ósea. Como la PTH aumenta el número de OC y extiende su borde rugoso, afecta por tanto al osteoclasto maduro. Su aplicación podría aumentar la velocidad del “turnover” óseo.

La *vitamina D* se le conoce la función de suprimir la secreción de PTH, promover la absorción de calcio (Ca) y fósforo (P) gastrointestinal y sintetizar la matriz ósea, entre otras acciones bioquímicas. En cambio, sus funciones celulares son aumentar el número y actividad de OC aunque es un efecto lento, activar la fusión de celular de línea monocito-macrófago (PMN), posee efecto inmunorregulador (linfocitos T) y no es bien conocido si promueve la mineralización ósea directa o actúa proporcionando Ca y P para permitir la mineralización. Aunque se podría decir que su aplicación local no aumentaría el proceso de osteoclastogénesis por la inhibición de la PTH, aumenta la expresión del RANKL a través de células locales y por tanto sí que estimularía el proceso. Las *PG*, en su mayoría la *PGE 2*, tiene un comienzo más lento de reabsorción que PTH, aumenta la concentración AMPc en el OC, es un nexo de unión entre OB y OC y actúan sobre OC alterando su morfología. Esta alteración morfológica se observa en el aumento de la superficie del borde rugoso, el tamaño celular y el número de núcleos, aunque no aumenta el número de células y actúa sobre el OC maduro, pero no sobre sus células progenitoras.

Respecto al factor activador de osteoclastos (OAF), bioquímicamente es una linfoquina, un producto elaborado por linfocitos (linfocitos T/monocitos) y produce reabsorción ósea por activación de OC. Se requiere por tanto la interacción entre linfocitos y macrófagos para producir OAF (Chaqués Asensi J, 1999; Nimeri G et al., 2013).

II.1.4 CÉLULAS IMPLICADAS EN EL MOVIMIENTO

Osteoblastos(OB)

Células formadoras de hueso que derivan de la línea de células osteoprogenitoras y sus progenitores pueden ser tanto los precondoblastos indiferenciados como células del estroma de la médula ósea. El origen de los OB está en las mismas fuentes que el

fibroblasto, en la llamada unidad formadora de colonia de fibroblastos (UFCF). Los OB derivan de células mesenquimales indiferenciadas de la membrana periodontal, que pueden derivar a OB o fibroblastos. Por lo tanto el OB implicado en el proceso del movimiento dentario es un elemento que forma parte de la dotación celular de la membrana periodontal y cuyo origen es local. El número de OB que se formen dependerá de las células mesenquimales progenitoras, concretamente por la UFCF. Todos los mecanismos que se puedan poner en marcha como consecuencia de diferentes procesos tanto físicos como bioquímicos para que se lleve a cabo el movimiento dentario, puede afectar al OB, fibroblasto o a las células progenitoras de ambos (Chaqués Asensi J, 1998a).

Estos procesos que estimulan el movimiento, activan a su vez factores de transcripción, como la proteína factor de unión-cbfa1 o RUNX2- y OSX, que se unen a elementos de ADN específico –PROMOTORES- para diferenciar los osteoblastos. Algunos estudios demuestran que con la disminución de éstas proteínas en ratas se forma tejido cartilaginoso pero no óseo (Lerner UH, 2012).

Los osteoblastos tienen diferentes funciones, una es la formación de la matriz extracelular (ECM) y proteínas para promover la mineralización y por tanto la formación ósea, otra es aumentar las proteínas de la matriz como la osteocalcina que promueve el metabolismo de las grasas y energía y por último la reabsorción ósea por inducción paracrina de las células progenitoras de la diferenciación de osteocitos (Chaqués Asensi J, 1998a).

De forma específica, en la matriz extracelular se produce la formación de colágeno tipo I, osteocalcina, sialoproteínas, factores de crecimiento-TGF, factor de crecimiento derivados de plaquetas y factor de crecimiento de fibroblastos-FGF. Es conocido que los OB ejercen un papel en la función de los osteoclastos (OC), ya que entre otros solo los

OB poseen receptores específicos para la PTH y vitamina D3, tan bien conocida esta hormona como resorptiva desde la década de 1970. Existen muchas teorías sobre como es el mecanismo de imbricación de ambas pero aún no se conoce. Se sabe que regula la cantidad de hueso formado como la cantidad de osteoclastos que reabsorben el hueso teniendo por tanto funciones anabólicas y catabólicas. No se sabe por el momento como los OB se regulan para promover la reabsorción o la aposición ósea. A nivel endocrino ya hemos comentado que los OB expresan en su superficie PTHrP, un aumento crónico de esta hormona como en hiperparatiroidismo estimula por tanto la osteoclastogénesis y su disminución, la formación ósea. Un aumento de vitamina D3 y calcio en pacientes con osteoporosis mejora la formación pero tampoco hay estudios que apoyen esta afirmación.

A nivel paracrino la diferenciación OB se debe a la secreción de la familia TGF- β (BMPs, TGF β 1, activinas, inhibinas y miostatinas) y la regulación neuronal a neuropeptidos vasoactivos intestinales, calcitonina, sustancia P, neuropéptido y catecolaminas, glutamato, serotonina, dopamina y neurofinas (Lerner UH, 2012).

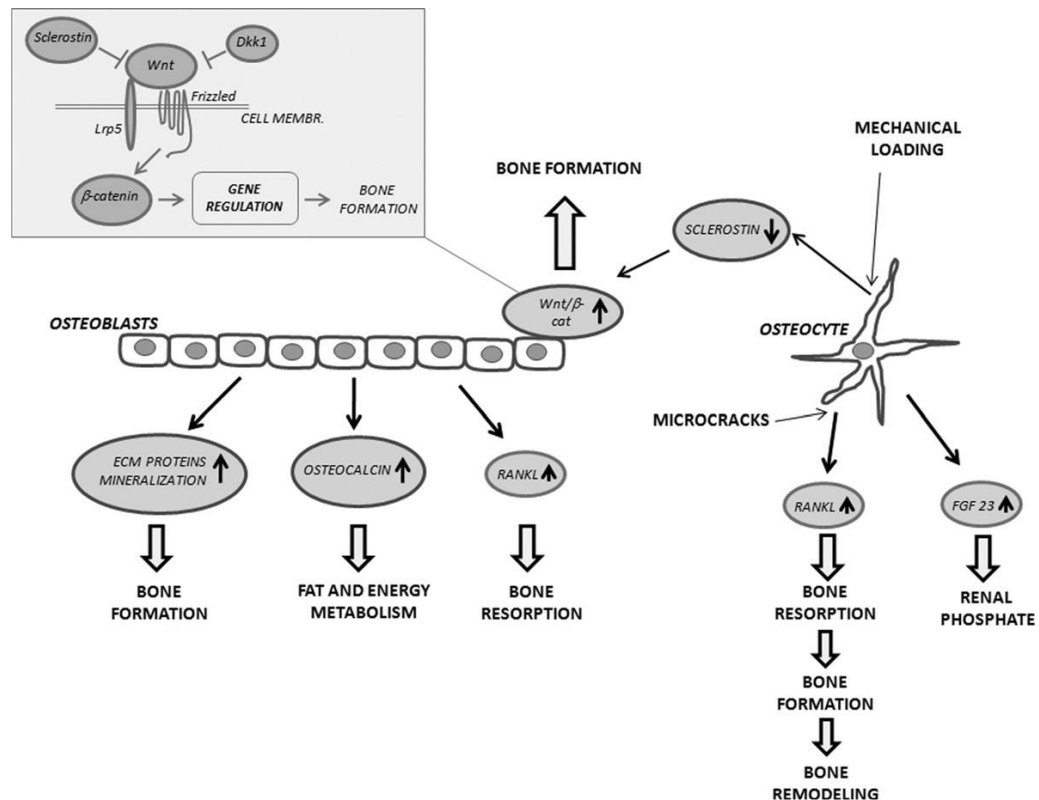


Figura 2. Procesos necesarios para la activación celular (Lerner UH, 2012)

Osteoclastos (OC)

Es la célula primaria responsable de la reabsorción ósea. Walker fue el primero en afirmar que los OC tienen origen hemapotoyético, además de ser capaz de fusionarse con OC preexistentes y restaurar su capacidad de reabsorber hueso o fusionarse con otras células y formar OC fusionantes. Los monocitos por otro lado, también proporcionan la formación de OC, concretamente los polimorfonucleares (PMN). Pero cuando estos PMN están completamente diferenciados no se pueden rediferenciar en OC, por lo que la diferenciación OC tendría lugar en un estadio más precoz dentro de la línea monocitaria. Se requieren otras células para la diferenciación. El origen real es un granulocito del cual se formará un preosteoclasto y un promonocito que darán respectivamente a estas células. Estructuralmente el OC es una célula gigante con características antigénicas únicas, presenta alta concentración de hidrolasas y receptor para calcitonina, pero no para PTH.

Posee un borde rugoso carentes de receptores para C3b y factores del complemento, pero su actividad está regulada por la exposición a PTH, factor activador de osteoclastos, 1,25 dihidroxi-vitamina D, prostaglandina E2 (PGE 2) y calcitonina entre otros, que son factores que no afectan a la reabsorción mediada por macrófagos. Los OC crean fosetas de excavación o lagunas de reabsorción en el hueso mientras que los macrófagos no lo hacen (Chaqués Asensi J, 1998a).

La prostaglandina (PGE2) promueve una de las señales moleculares mas importantes para que haya reabsorción ósea durante la fase de inflamación primaria. Actúa de forma anabólica en el hueso y tejido periodontal y opera mediante cuatro tipos de receptores (EP1, EP2, EP3 Y EP4). El 2 y 4 tanto in vivo como in vitro son receptores que median la formación ósea. Un aumento de concentración implica la inhibición de la síntesis de colágeno y permite la reabsorción ósea, sin embargo una disminución promueve la replicación y diferenciación de osteoblastos y la estimulación y formación ósea aumenta (Braga Rego E et al., 2010).

El OC es una célula esencial no solo en la reabsorción ósea sino también en la destrucción ósea durante la rizólisis, durante el movimiento dental fisiológico o en enfermedades periodontales (Chaqués Asensi J, 1998a).

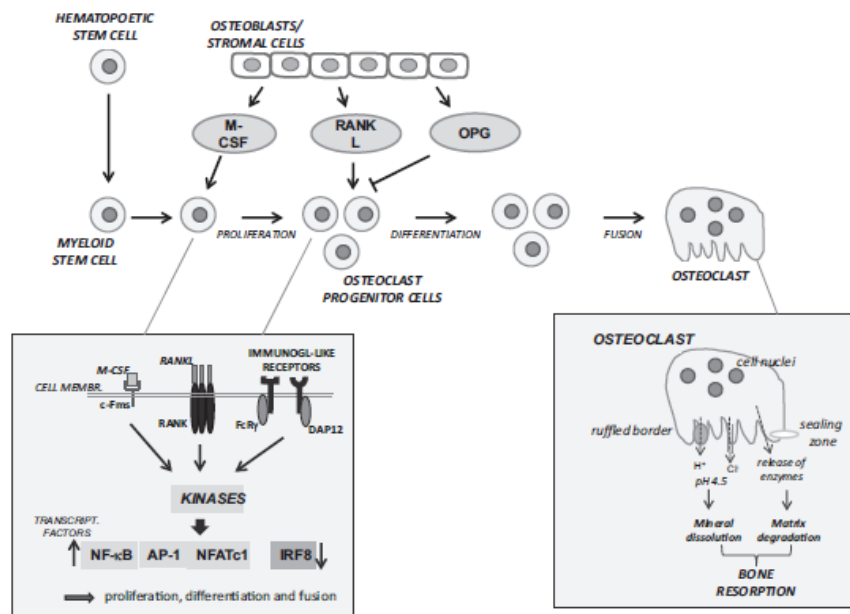


Figura 3. Activación de osteoclastos mediante la acción de RANKL y OPG (Lerner UH, 2012)

Osteocitos

Ocupan el 90% de las células óseas y se encargan de regular a los osteoblastos y osteoclastos, así como el metabolismo del fósforo. Derivan de los osteoblastos y se forman tras recibir una carga mecánica. Esta carga promueve el aumento de la concentración de prostaglandinas, óxido nítrico, factor de necrosis tumoral, receptores de estrógenos y Wnt-caterina. Los osteocitos expresan componentes de los Wnt/b-catenina (Lrp5 antagonista, Dkk1 y esclerostina). Dkk1 es expresado por muchas más células, en cambio la esclerostina solo se expresa por osteocito, promoviendo una disminución de su concentración, un aumento en la masa ósea, por tanto tiene efectos en la actividad del osteoclasto. Está mediada por PGE2 y actúa sobre EP4 (Braga Rego et al., 2010). Por otro lado, el osteocito activa también a osteoblastos a través de factores como las proteínas morfogénicas óseas o el factor derivado de plaquetas (Henneman S et al., 2008).

Los osteocitos expresan M-CSF, RANKL y OPG, regulando la formación y función osteoclástica. La esclerotina está producida por los osteocitos y ante una fuerza externa, hace que el osteocito inhiba la supervivencia de los osteoblastos, estimulando por tanto la osteoclastogénesis. Por esta vía se ha investigado, que cuando se aplica una vibración mecánica, se disminuye la expresión de esclerotina, favoreciendo la formación de hueso (Huang H, 2014).

Según la fuerza ortodóncica que apliquemos se producirá la cascada de acontecimientos que va a producir el movimiento dental. Todo ello depende de :

- La magnitud de la fuerza.
- La duración de la fuerza: continua, discontinua o intermitente.
- Dirección y punto de aplicación de la fuerza.
- Presión: fuerza por unidad de superficie.
- Transmisión de la fuerza en las estructuras implicadas.
- Desplazamiento de la membrana periodontal.
- Desplazamiento del hueso alveolar adyacente
- Movimiento resultante.

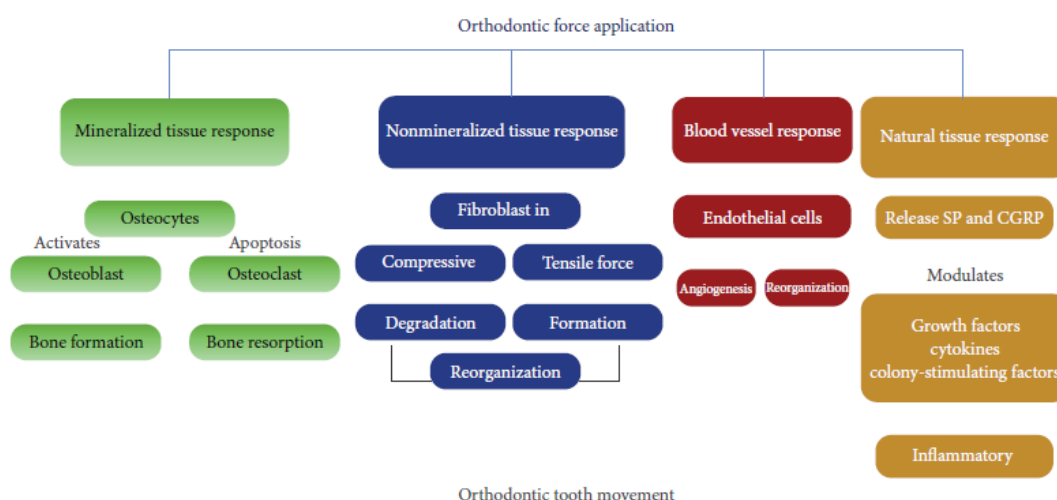


Figura 4. Efectos de la aplicación de una fuerza ortodóncica en tejido mineralizado y no mineralizado del diente (D'Apuzzo et al., 2013)

Fibroblastos

Son células del tejido conectivo cuyas funciones principales se basan en la quimiotaxis, la migración celular, la diferenciación, la supervivencia celular y la apoptosis. El factor de crecimiento fibroblástico tiene tanto efectos anabólicos como catabólicos. A una concentración baja sobre los osteoclastos maduros, puede provocar una reabsorción ósea moderada, en cambio a una concentración alta, induce a la COX 2 y provoca una reabsorción ósea severa.

Se ha visto como en el lado de compresión hay un aumento de PGE2, IL1 y fibroblastos, estimulando la reabsorción ósea. También como resultado del estudio, se observó como el factor de crecimiento fibroblástico 2 induce la expresión del RANKL y que el anti-factor de crecimiento fibroblástico lo inhibe. Mas específicamente se encontró la inhibición del 49% del RANKL producido a través del anti-factor de crecimiento fibroblástico, la OPG fue inhibida en un 66% (Nakajima R et al., 2008).

II.1.5 MOLÉCULAS IMPLICADAS EN EL MOVIMIENTO

Macrófago estimulador de colonias (M-CSF)

Glicoproteína que modula la hematopoyesis y favorecen la supervivencia y proliferación de los precursores del monocito/macrófago. Promueve, además, la diferenciación a fagocitos y aumenta la contracción osteoclástica temprana y su diferenciación. Se detecta en los osteoblastos y fibroblastos del ligamento periodontal y hueso alveolar. La inyección local de M-CSF, incrementa el número de osteoclastos y acelera el movimiento dentario en ratas (Huang, 2014). En cambio, el anticuerpo c-fms, inhibe el movimiento dental mediante la inhibición de la osteoclastogénesis. Tanto el RANK/RANKL como M-CSF/c-fms se han observados en las lagunas de reabsorción radicular en molar de rata ante fuerzas ortodóncicas. En uno de los estudios realizados se analizó la presencia de RANK/RANKL y M-CSF/c-fms en las reabsorciones radiculares durante el movimiento dentario experimental usando análisis inmunohistoquímico. Fueron necesarios 40 machos analizados a los 3 y 7 días y con 0 gr de fuerza, 10 y 50 gr. Con 50 gr. Se observó mayor expresión, pero también con 10 gr hubo más movimiento y menos reabsorción. M-CSF promovió la proliferación osteoclástica y diferenciación de estos in vivo e in vitro (Nakano Y et al., 2011; Huang H, 2014).

En uno de los estudios se analizaron 40 ratones divididos en 8 grupos (5 ratones por grupo), se observó la concentración de RANK/RANKL y M-CSF/c-fms a los 3 y 7 días con fuerzas de 0gr, 10 y 50 gr. Los resultados mostraron mayor expresión en la concentración de las moléculas estudiadas con 50 gr, pero con 10 gr existía más movimiento y menos reabsorción radicular (Nakano Y et al., 2011).

Otras citoquinas implicadas en la reabsorción ósea

Entre ellas, la caspasa 1 β promueve una respuesta apoptótica, activación de IL-1 β y otras citoquinas, es pro reabsorción radicular. La enzima lisosomal β gluconidasa aumenta en proporción a la fuerza aplicada, la aspartato aminotransferasa (AST) y la lactato deshidrogenasa (LDH) son expulsadas al medio tras necrosis celular y aumenta en las zonas de tensión y compresión el día 7 y 14 tras la aplicación de fuerza. La fosfatasa alcalina (ALP) y ácida (ACP) en las que las primeras son formadas por osteoblastos y están implicadas en la mineralización durante la segunda fase del remodelado y las segundas se activan por los osteoclastos en la primera fase (D'Apuzzo F et al., 2013).

Las citoquinas por otro lado promueven la formación de hueso además de las proteínas morfogenéticas y los factores de crecimiento, activando los osteoblastos. La matriz de colágeno extracelular también remodela zonas de tensión y compresión, a través de las metaloproteinasas (MMP) en procesos patológicos y fisiológicos. MMP junto con inhibidores tisulares de las metaloproteinasas (TIMP) están por tanto involucrados en el movimiento dental. El metabolismo del tejido conjuntivo y mineralizado se realiza a través de las citoquinas y factores de crecimiento. Entre estos, el factor de necrosis tumoral α (con efecto catabólico), promueve la osteoclastogénesis y la expresión de MMP (reabsorción ósea), el factor de necrosis tumoral β promueve la osteoblastogénesis y activación de células de la matriz extracelular (acción anabólica tanto en zonas de tensión como de compresión), la IL-10 inhibe la deposición y degradación ósea disminuyendo la presencia del RANKL y estimulando la formación ósea (acción anabólica), IL-6 con actividad auto/paracrina, IL 8 la cual se ha visto que aumenta en la zona de tensión (remodelado óseo).

En el estudio se observó que entre las citoquinas, la IL-10 estaba en mayor concentración en el lado de tensión, TNF α en el lado de compresión y respecto a TNF β ,

no había diferencia significativa entre ambos lados. $TNF\beta$ en la zona de compresión era precursor de los osteoblastos aumentado MMP y en la zona de tensión estimulaba la diferenciación, el crecimiento celular y la producción de la matriz. En las proteínas de la matriz se vio una concentración mayor en la zona de tensión de COL-1, MMP-1 Y TIMP-1 y en la zona de compresión de MMP-1. Se encontraron correlaciones positivas entre: $TNF\beta$ y TIMP-1, IL-10 y COL-1, entre TIMP1, OCN Y OPG y entre $TNF\alpha$ y RANKL. Las correlaciones negativas fueron entre $TNF\beta$, $TNF\alpha$ y IL-10 (Garlet T et al., 2007).

Las fosfoglicoproteínas de la matriz extracelular (MEPES) son reguladores óseos encargadas de la mineralización y eliminación de minerales de la pared canalicular. Los niveles de MEPES disminuyeron a las 6 horas de carga, aumenta su concentración a los 3 días y vuelve a nivel basal a los 7 días, al contrario que las proteínas de la matriz dentinaria (DMP-1) que se mantiene elevada desde la aplicación de la fuerza 5 veces por encima de su nivel basal en ratones y un estudio a 7 días (Gluhak-Heinrich J et al., 2007).

El factor de crecimiento endotelial (VEGF) es una citoquina expresada en la neoformación del tejido en la que aumenta la permeabilidad vascular y la angiogénesis en la zona de tensión, y en la de compresión forma nuevos vasos alrededor del tejido hialinizado.

RANKL y OPG:

El ligando receptor activador para el factor nuclear $K\beta$ (RANKL) es una importante molécula del metabolismo óseo formado por 317 aminoácidos que se encuentra en la membrana de los osteoblastos. Es uno de los miembros del factor de necrosis tumoral (TNF) junto con el receptor activador para el factor nuclear $K\beta$ (RANK) y la osteoprotegerina (OPG). Es a su vez, un ligando de la osteoprotegerina (OPG), factor

inhibitorio de la osteoclastogénesis, con 380 aminoácidos y se expresa en el plasma de la membrana de osteoblastos (Huang H et al., 2014).

El RANKL induce la diferenciación de osteoclastos, mediante su unión al RANK en la superficie celular osteoclástica, a partir de precursores hematopoyéticos y estimula la actividad ósea resorptiva. El factor de necrosis tumoral α convierte el RANKL de la membrana en RANKL soluble y la actividad osteoclastogénica es atenuada. Se conoce que el RANKL por fuerzas de compresión aumenta sus niveles en humanos e in vitro (Nakajima R et al., 2008). El RANKL está presente en osteocitos, osteoblastos, fibroblastos y osteoclastos (Nakano K et al., 2011). Existe dos tipos de RANKL, RANKLm (transmembrana) y el RANKLs (soluble), ambas formas son bioactivas aunque el transmembrana es fisiológico y expresado por osteoblastos y el soluble aparece en condiciones patológicas y es expresado mayoritariamente por linfocitos T (Florez-Moreno G et al., 2012). La disminución de movimiento con la edad puede asociarse a una disminución en la relación de RANKL/OPG analizado en el fluido crevicular, en las primeras etapas del movimiento periodontal (Kawasaki K et al., 2006). Los niveles de RANKL son tiempo y fuerza dependientes, cosa que no ocurre con la OPG (Nishijima Y et al., 2005). Las fuerzas aplicadas deben ser menores (2 gr/cm^2) e intermitentes antes que continuas para producir menor daño de las células del ligamento periodontal (Nakao K et al., 2007, Tuula I et al., 2012).

Los osteoblastos son altos productores de RANKL y de forma autocrina los osteoclastos producen RANKL para su receptor de membrana RANK. Además provoca cambios en la motilidad de los osteoclastos y aumenta la supervivencia de estos, pero el número de osteoclastos disminuye con la edad y las células PDL por apoptosis, por lo que con la edad cabe esperar que disminuya la osteoclastogénesis (Ogasawara T et al., 2004). Se ha descubierto mediante un estudio in vivo en el que provocaron una fuerza continua

sobre dientes sin reactivación durante 8 semanas, que el RANKL aumenta en el tiempo, disminuye a las 24-48 horas y también a las 5 semanas mientras que OPG disminuye y aumenta de nuevo a las 2-8 semanas. Indica, por tanto, que tanto RANKL como OPG y su variación en concentración se corresponde con las fases del movimiento dentario (Ogasawara T et al., 2004; Florez-Moreno G et al., 2012; Henneman S et al., 2008).

La OPG (osteoprotegerina) es una molécula con 380 aminoácidos y es secretada como proteína soluble. El RNAm de la OPG al igual que RANK y RANKL, además de en el hueso, se expresa en numerosos tejidos (pulmón, corazón, riñones, hígado, intestino, estómago, cerebro, glándula tiroides y médula espinal). La principal función de la OPG es el bloqueo del RANKL y derivado de este efecto, se producen dos tipos de efectos, inhibiendo por una parte su proceso de maduración y por otra su activación (Ferrer J., 2002).

Respecto a las funciones de OPG se analizó un estudio en el que se compararon ratones normales con deficientes en OPG y se observó mayor reabsorción en aquellos en los que estaba disminuida, pero las estructuras óseas reabsorbidas mostraron un hueso irregular quizás debido a que en estos ratones la expresión de RANKL se acentuó durante todos los días y no solo días específicos como es lo habitual. La OPG por tanto es un inhibidor de la osteoclastogénesis durante el movimiento dental y promueve la apoptosis de los osteoclastos. Los osteoblastos, las células del estroma y los fibroblastos están involucrados en el apoyo a los osteoclastos en su diferenciación durante el movimiento dental, tardando la expresión del RANKL unos días en aparecer (Oshiro T et al., 2002).

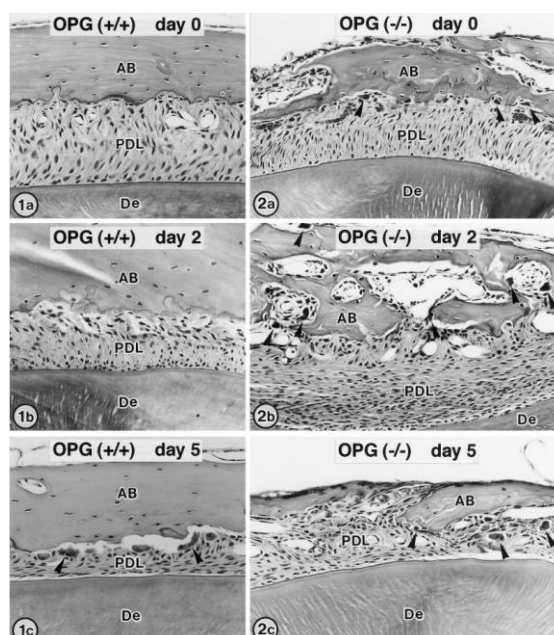


Figura 5. Cortes histológicos de ratones normales vs deficientes de OPG (Oshiro T et al., 2002)

En otro estudio donde lo que se hizo fue administrar en uno de los grupos OPG, el movimiento dental se redujo. Una de las ventajas de administrar OPG es que el efecto de expresión de las proteínas es eficaz independientemente de la circulación sanguínea y otra, es que la expresión de proteínas se produce de forma local, evitando efectos sistémicos, aunque si hay una inyección recurrente puede provocar efectos inmunes. Como resultado se observó que la OPG no solo se encontró en la zona de inyección por lo que se postula que hubiese una difusión a través de la sangre o por el fluido intersticial. Además disminuyó a la mitad el movimiento en el grupo de aplicación de OPG, pero este no inhibió del todo a los osteoclastos por lo que podría haber otras citoquinas que controlasen el movimiento dental (Kanzaki H et al., 2004).

Por otro lado, tras una fuerza aplicada sobre el ligamento periodontal, se producen una cascada de citoquinas y enzimas como la prostaglandina E2, interleucina-1 y 6 y cathepsina B y L. El factor de crecimiento-2 llega a través de la línea osteoblástica y promueve la formación de osteoclastos y osteoblastos, de hecho, estas células tienen

receptores para el factor de crecimiento. Por tanto está implicado en la osteoclastogénesis (Nakajima R et al., 2008). La estimulación de la reabsorción ósea en el lado de compresión según estudios en ratas se producía desde el día 1-7 tras la inserción de una banda elástica, aunque solo a los 4 días se observa un aumento de ATPasa en la superficie del hueso alveolar a reabsorber (Oshiro T et al., 2002).

Cuando se produce movimiento dentario ocurre casi en el 100% de los casos reabsorciones radiculares, aunque sean lagunas aisladas de reabsorción. Se ha observado reabsorciones de más de 3 mm en el 30% de dientes que han sufrido movimientos ortodóncicos. Estas reabsorciones dependen de la susceptibilidad de los pacientes, genética y factores sistémicos. Además según el artículo y los resultados obtenidos, se demostró cómo tras 6-12 horas de aplicación de la fuerza aumentó la concentración de RANKL y disminuyó la OPG en el grupo donde se observó mayor reabsorción radicular (Yamaguchi et al., 2006) (Tyrovola et al., 2008). Existe una correlación positiva entre RANKL en sangre y el grado de reabsorción radicular tras el movimiento ortodóncico. La concentración inicial de OPG/RANKL en sangre es un factor pronóstico del grado de reabsorción radicular. Además la concentración inicial de RANKL en fluido crevicular muestra una correlación lineal negativa con la concentración de RANKL en el suero sanguíneo (Tyrovola J et al., 2010).

Por otro lado, la medición de RANKL y OPG se puede realizar en saliva o en fluido crevicular. El exudado inflamatorio del surco aumenta en volumen y capilaridad cuando un agente externo actúa, por tanto, es posible analizar a través del fluido crevicular, las variaciones que existen tras la aplicación de una fuerza. En el fluido crevicular hay, además, más precisión que en saliva ya que es el lugar donde aumentan las reacciones inflamatorias y que podría proporcionar más conocimiento sobre el movimiento dentario. Hay que tener en cuenta que los estudios son limitados ya que solo

suelen medir un lado y no los dos (presión/tensión), además de la dificultad añadida del análisis. En todos los estudios se observa mayor concentración de RANKL y OPG a las 24 horas que a los 7 días por lo que muestran que son factores remodeladores iniciales del hueso (Barbieri et al., 2013) (Florez-Moreno G et al., 2012).

RANKL, IL-1B y TNF α promueven la osteoclastogénesis, pero las vías de señalización de cada uno son diferentes entre sí. Las células del ligamento periodontal (fibroblastos) son fundamentales para estimular la reabsorción ósea. Todas ellas están relacionadas con la fuerza biológica de los osteoclastos, pero no se conoce como estas células expresan diferentes factores de la remodelación ósea. Tras realizar una hibridación in situ, se observó mayor concentración de RANKL en la zona osteoclástica (en células multinucleadas, osteoblastos, odontoblastos y células del ligamento periodontal-PDL-) mientras que OPG se encontró en la zona de formación ósea. Se observó una distribución diferente de forma fisio o patológica. En estado fisiológico IL-1B y TNF α se detectaron en algunos osteoblastos, no observándolos en los osteoclastos. De forma patológica, estas citoquinas se detectaron en los osteoclastos. Por tanto, el RANKL y OPG se observaron en condiciones patológicas y fisiológicas, aunque la distribución celular cambia durante el movimiento. Mientras que las células del ligamento PDL expresaron IL-1B y TNF α solo en condiciones patológicas (Ogasawara T et al., 2004).

II.2 FACTORES MODIFICANTES DEL MOVIMIENTO DENTAL

Los factores que inhiben por otro lado la actividad de los osteoclastos son:

- *Calcitonina*; actúa sobre OC y OB, inhibe la capacidad de reabsorción de los osteoclastos. Para ello, altera la retracción de los OC en la membrana plasmática

y disminuye su movilidad. Se produce también una bajada en la concentración de enzimas lisosómicas y AMPc intracelular (Chaqués Asensi J, 1998a).

- *Cortisol*; sinergia con calcitonina provocando sus mismos efectos, regula la absorción de Ca, inhibe OC y enzimas lisosómicas por parte de los macrófagos.
- *Otros*; factores orgánicos, alfa-interferón y agentes farmacológicos (Chaqués Asensi J, 1998a).

Algunas patologías sistémicas y locales también pueden afectar positiva o negativamente el movimiento dentario ortodóncico:

- Artrosis, osteoporosis u otros desórdenes metabólicos con afectación ósea. La artrosis puede afectar a la ATM, limitando o contraindicando nuestro tratamiento. La osteoporosis, asociada a una disminución de estrógenos, compromete la cantidad y calidad ósea y suele ser tratada con fármacos. Es el efecto del fármaco en sí el que más puede influenciar nuestro tratamiento.
- Diabetes. Está asociada a alteraciones vasculares que retardan la cicatrización, además de comprometer la integridad de la mayoría de tejidos al reducir su vascularización, y por ende, el aporte de nutrientes. Siempre que esté controlado, se puede tratar a los pacientes, más si cabe si para el paciente hay claros beneficios y no se alarga mucho el tratamiento.
- Epilepsia. Las crisis convulsivas suponen de por sí un riesgo que se vería acrecentado en los portadores de cualquier aparatología. Los aparatos removibles estarían contraindicados en aquellos pacientes con convulsiones frecuentes, por posibilidad de aspiración. Por otro lado, los medicamentos utilizados en el tratamiento de esta entidad, especialmente las difenilhidantoínas, producen agrandamiento gingival, lo que entorpece el tratamiento ortodóncico. Algunos

estudios apuntan que la fenitoína reduciría el movimiento dentario al reducir la actividad osteoclástica.

- Artritis reumatoide. Se asocia a degeneraciones óseas, especialmente condilares, con reabsorción completa de ambos cóndilos en algunos casos de pacientes adultos. En la artritis reumatoide juvenil, puede darse una severa deficiencia del crecimiento mandibular. La administración de esteroides en el tratamiento de estos pacientes puede ocasionar problemas periodontales, por lo que deben evitarse tratamientos prolongados.
- Hipertiroidismo. Aumentaría el movimiento dentario ortodóncico, pero la asociación científica es débil.
- Hiperparatiroidismo. Aumenta el movimiento dentario ortodóncico al provocar reabsorción ósea para liberar calcio al torrente circulatorio. Una dieta muy pobre en calcio podría inducir este mismo efecto al activar el eje hipotalámico-hipofisiario para producir PTH (Nimeri G et al., 2013).
- Cualquier condición que implique medicación con antiinflamatorios no esteroideos (AINEs) de manera crónica.
- Deficiencias vitamínicas, en especial de vitamina E y C (Krishnan V et al., 2012).
- Efectos de la disminución de la vitamina D3 en el movimiento ortodóncico. Se ha observado que la inyección de vitamina D3 puede mejorar el “turnover” óseo (Nimeri G et al., 2013).
- Relaxina. Es una hormona que aumenta durante la fase final del embarazo y durante el parto para ensanchar los ligamentos del canal del parto y favorecer el nacimiento. Se encuentra aumentada también en la sutura craneal y en el ligamento periodontal (PDL). Respecto al movimiento dentario, se ha observado que aumenta el colágeno en el lado de tensión y disminuye en la zona de

compresión. Aunque hay estudios que avalan el aumento de movimiento y otros que lo desacreditan, lo que si se conoce es que reduce los niveles de organización del ligamento periodontal, disminuye la resistencia del mismo y favorece por tanto, el movimiento (Nimeri G et al., 2013).

En el movimiento dentario no solo tendremos en cuenta las enfermedades que afectan a este sino las variables locales que pueden alterarlo. Teniendo en cuenta que la mayoría de los estudios se realizan en ratas o perros, hay que conocer las diferencias histomorfométricas del recambio óseo alveolar que se produce respecto a humanos. Para estudiar las diferencias locales que pueden afectar al movimiento, se cuantificó estas propiedades y los cambios tanto en cantidad como en calidad del hueso alveolar entre maxilar y mandibular ante el movimiento dental ortodóncico en perros (Deguchi T et al., 2008).

En adultos, la tasa de remodelación es de 37% /año en el hueso cortical y 24%/ año en el hueso trabecular (Deguchi et al., 2008). Hay que tener en cuenta que los tejidos periodontales son diferentes entre niños y adultos ya que en los últimos no permanecen en su etapa proliferativa, los espacios medulares son más pequeños, el flujo celular se reduce y el potencial de remodelación es menor (Mérida, 2011). Además, en adultos disminuye la actividad osteoclástica y osteoblástica y el volumen medio del fluido crevicular (Kawasaki K et al., 2006). Por otro lado las fibras colágenas en adultos son menos abundantes y hay menos número de células, por lo que reaccionan más lentamente a cargas de ortodoncia (Mérida, 2011). El estudio utilizó 12 beagles machos de 8 meses de edad, cuyos primeros premolares fueron sometidos a una fuerza de 200 gr y sujetos a un minitornillo en la zona del tercer premolar tanto en maxilar como en mandíbula. El lado contralateral se usó como control. Cada dos semanas se realizaba una radiografía

periapical, se medía la fuerza aplicada y se cambiaba el elastómero. De 3 a 10 días antes de analizar el tejido, se inyectó fluorocromo y verde calceína y los parámetros se midieron a las 2, 4, 6, 8, 10 y 12 semanas. Se observó que en el maxilar había sufrido mayor movimiento mesiodistal a las 4 y 6 semanas que la mandíbula. El movimiento de intrusión también fue mayor en el maxilar a las 8, 10 y 12 semanas. Tras 4 semanas de movimiento hubo un aumento de hueso laminar en el lado de tensión y compresión. Hubo además un incremento de hueso a las 12 semanas de movimiento, mayor en la zona de tensión que de compresión. Se observaron a las 4 semanas lagunas resorptivas en las zonas de compresión con osteoclastos, que disminuyeron a las 12 semanas.

Por tanto, hubo mayor movimiento en dientes superiores que inferiores durante las 12 semanas, disminuyó el volumen óseo en el movimiento dental al principio y aumentó la reabsorción, la tasa de recambio en maxilar fue 10% más que en la mandíbula, aumentó el metabolismo en zonas de tensión (200%) comparado con el de compresión (100-150%) y se observó que el movimiento de ortodoncia se caracterizaba por un fenómeno de aceleración y respuesta a un daño producido (Deguchi T et al., 2008, Santos RL et al., 2010).

II.3 TIPOS DE ACELERACIÓN DEL MOVIMIENTO ORTODÓNCICO

Se han descrito dos métodos para aumentar la velocidad del movimiento dental: físicos o químicos y quirúrgicos o no quirúrgicos. Entre los químicos se encuentra la administración sistémica de fármacos como las prostaglandinas, interleucinas, adenosina monofosfato cíclico y la vitamina D; la estimulación física o mecánica mediante corrientes eléctricas, campos electromagnéticos pulsátiles, luz, calor, imanes de samario-cobalto, láser de baja potencia y por último, procedimientos quirúrgicos o no quirúrgicos

incluyendo fibrotomías gingivales (cuya efectividad es controvertida), osteotomías o corticotomías, piezoincisión, micro-osteoperforaciones.

II.3.1 QUÍMICOS O FÍSICOS

Ultrasonidos (US)

Los US estimulan a las células óseas y al cartílago provocando efectos anabólicos y celulares directos, además de biológicos y bioquímicos. Son utilizados en terapia génica, para la administración de fármacos y como terapia para cáncer. Los US con baja frecuencia e intensidad producen la curación y regeneración de tejidos (aceleración y curación del hueso y reparación de defectos óseos). Se ha observado como estimulan las células mesenquimales y su diferenciación en el cartílago y la línea osteogénica.

En odontología su uso hasta el momento ha sido la alta frecuencia. Se ha utilizado para realizar diagnóstico de caries sin necesidad de realizar radiografía, medir la profundidad de bolsas en el control de enfermedades periodontales, aunque los usos más comunes son en higiene bucal, tratamiento de conductos, corte de la cortical en cirugías orales y maxilares orofaciales. La baja intensidad promueve el crecimiento óseo y su reparación, y la erupción de dientes durante la distracción mandibular, además de mejorar la cementogénesis, pero aumenta la reabsorción radicular. Se ha estudiado como los dientes, órganos biomecánicos, están formados por dentina cubierta por esmalte no vital, su uso promueve la dentinogénesis. La baja frecuencia de los US muestra el estímulo de células osteogénicas causando la reparación acelerada de las fracturas óseas y un estímulo de los factores de crecimiento TGFβ1 y VEGF (Scheven B et al., 2009).

Estudios in vitro han demostrado el aumento de la concentración de genes que promueven la formación ósea, además de la aparición de calcio en varias líneas celulares

osteoblásticas y estimulación de PGE2. Se ha observado que PGE2 afecta a la actividad osteogénica de los osteoblastos, los US pueden optimizar dichos efectos ya que los cementoblastos tienen características similares a los osteoblastos.

En un estudio sobre la acción de los US en el hueso, centrándose en PGE2 dio como resultado que la producción de esta molécula aumentaba mucho a las 3-6 horas tras la exposición de ultrasonidos y que se producía la expresión de mRNA de EP2 y EP4 después de una hora de la estimulación. EP1 y EP3 no se vieron alterados. Se observó también la formación de depósitos de calcio, EP1 y EP3 antagonistas mostraron este tipo de depósitos, mientras EP2 y EP4 no y a la inversa en los agonistas. Según Inubushi et al. (2008), los US promueven la rápida diferenciación de cementoblastos. Además, los cementoblastos poseen muchas características en común con los osteoblastos incluyendo propiedades moleculares y la promoción de la mineralización. La baja intensidad de los US, regulan la COX-2 y la consecuente producción de PGE2 en varias células osteoblásticas, promoviendo la mineralización, por ello la inhibición de la COX2 suprimió en el estudio la mineralización (Yamaguchi M, 2007). En 2002, se afirmó que la acción osteogénica de PGE2 en los osteoblastos está mediada solo por EP4, sin embargo, Woodiel et al. (1996) encontró actividad en EP2 como efecto anabólico de PGE2 (Braga Rego E et al., 2010).

Campo electromagnético VS no intervención

Se ha observado mayor movimiento en el grupo experimental (5.0+-1.3 vs 3.5+-1.6 mm) (Long et al., 2013). Sin embargo, el mecanismo de acción de los mediadores no están claros y la inflamación y activación osteoclástica no ha sido estudiada (Alikhani M, 2017b).

Distracción dentolaveolar vs distracción periodontal

El tiempo requerido para el movimiento es menor en la distracción dentoalveolar. Existe una menor pérdida de anclaje sagital en la distracción dentoalveolar pero mayor pérdida de anclaje vertical. La vitalidad pulpar tras un año es igual en ambas y 1 de cada 6 casos presenta reabsorción radicular. La diferencia entre ambos entre otras cosas es que los primeros se activan dos días tras la exodoncia de premolares en cambio las distracciones periodontales son activados en el momento, por lo que el resultado entre ambos no es comparable (Long H et al., 2013).

Luz y calor

Estudios recientes han demostrado la aceleración de movimiento dentario mediante la aplicación de luz o calor, sin embargo la magnitud de aceleración es pequeña y podría tener efectos sistémicos y no solo locales (Alikhani M, 2017b).

Respecto al láser, no hay diferencias en los estudios en cuanto a la salud periodontal, no se produce reabsorción radicular pero tampoco se han encontrado evidencias significativas respecto a la aceleración del movimiento dentario (Long et al., 2013). Aunque no se haya observado aceleración, sí que se ha visto una regeneración ósea aumentada durante una expansión maxilar en ratas y la proliferación y diferenciación de osteoblastos. Otros autores sí que han mostrado un aumento de velocidad de movimiento dental en sus estudios como Further et al. (2009) aunque la evidencia científica es moderada (Yamaguchi M, 2009; Gkantidis N et al., 2014; Almeida-Lopes L et al., 2001; Chen AC et al., 2011; Chung H et al., 2012).

La biofotomodulación, hoy en día conocida por el dispositivo utilizado por los pacientes como OrthoPulse®, es un paso más, una terapia que utiliza láser de baja potencia (LLLT) y que produce efectos beneficiosos en la regeneración ósea y

crecimiento tisular como, efecto en los fibroblastos y proliferación condral, síntesis de colágeno, cicatrización de heridas y regeneración nerviosa. De este modo a nivel ortodóncico puede tener una serie de terapias anexas como aumentar la velocidad de movimiento dentario, reducir el dolor tras las visitas de activación de la aparatología, acelerar el proceso de regeneración ósea durante la fase de consolidación tras una distracción osteogénica o en las úlceras producidas por la aparatología (Ekizer A et al., 2012).

En relación al movimiento dentario, se ha comprobado un fenómeno de aceleración regional utilizando luz infrarroja (830 nm), que regula la síntesis de RANKL y OPG y ayudaría al proceso inicial de reabsorción ósea, mediante la activación de los osteoclastos (Guo J et al., 2015).

La diferencia con el LED (diodo emisor de luz), es que es más selectivo y por tanto tiene menos efectos secundarios.

Su mecanismo de actuación es a través de la producción intracelular de adenosín trifosfato (ATP), sobre todo en células isquémicas o heridas, a través de la cadena respiratoria de la enzima citocromo c oxidasa (Ekizer A et al., 2012; El-Bialy T et al., 2015; Nimeri G et al., 2013).

La luz en diferentes intensidades, acelera la respiración mitocondrial mediante este ATP y cambia el metabolismo celular. Estas reacciones metabólicas y los procesos que ocurren en las células, son cíclicas y el periodo de cada uno es de 1 segundo a 5 minutos. Un pequeño cambio de nucleótidos (ATP, ADP y AMP) induce grandes cambios en el metabolismo celular, ya que actúan como activadores e inhibidores de varias enzimas claves en el metabolismo energético celular. Así, un incremento por luz de 6-7%

del rango de síntesis de ATP, se traduce a nivel biológico en un incremento de 10-30% de actividad celular (Morimoto Y et al., 1994).

Se ha evaluado la atenuación de la luz al pasar a través de los tejidos, siendo en LLLT mucho mayor que en LED, el cual puede mantener con su potencia original (Ekizer A et al., 2012). En la fotobioestimulación es necesario entre 550-950 nm, debido a que la absorción de infrarrojo es menor en la hemoglobina y el agua y, por tanto, se necesita más nanómetros para producir un efecto en las células óseas. En cuanto a los Julios, según distintos análisis observados en la bibliografía, no depende tanto de la unidad de trabajo sino del área de aplicación de la misma, a mayor área, menos Julios y viceversa, aunque este punto no se detalla en ninguna de las bibliografías encontradas. Lo ideal es utilizar para bioestimulación una energía de 2-12 J/cm² sin embargo, hay una dispersión que provoca solo una llegada del 50% de la luz a 1 mm de profundidad, por lo que la mayoría de ellos, utilizan 54-64 J/cm² in vitro. Todo ello indica una relación dosis/respuesta de los tejidos y habría que investigar si existe la misma relación en humanos (Altan BA et al., 2012; Yi J et al., 2017).

Vibración

En medicina la vibración se ha estudiado como método para prevenir la pérdida ósea postmenopausia, encontrando in vitro, efectos positivos en la preservación de la densidad ósea (Flieger J et al., 1988).

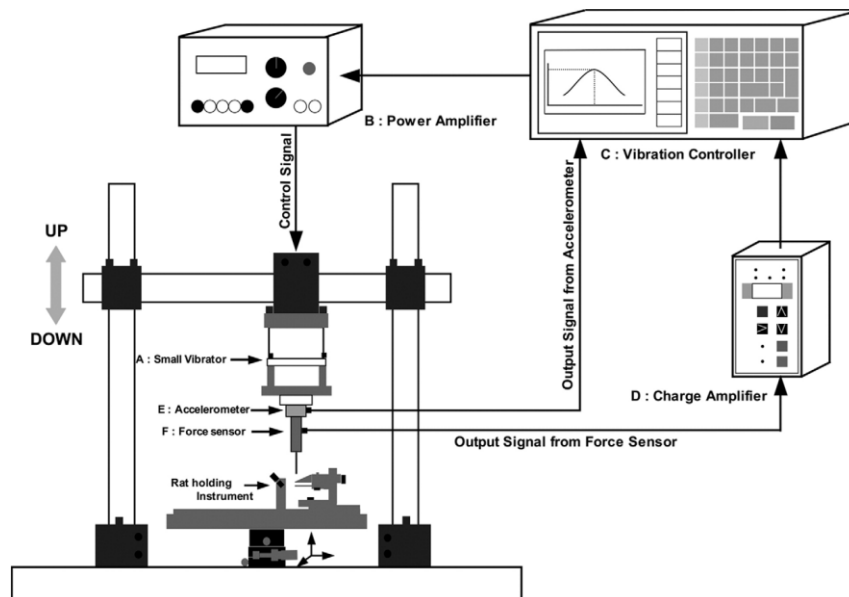
En campos como la ortodoncia, la alta frecuencia y la baja magnitud, se ha asociado a una aceleración de movimiento dental y remodelado óseo, además puede disminuir el dolor asociado al ajuste que se realiza progresivamente en ortodoncia. La alta frecuencia y baja magnitud (a partir de 30Hz-0,3g) se relaciona a la función anabólica de hueso, siendo catabólica con baja frecuencia y alta magnitud (1 Hz, 3000 señales de

microtensión) (Shah, 2017). En contraposición a este estudio, hay otros que avalan el efecto catabólico ante cualquier frecuencia de vibración tras la aplicación de una fuerza que aumentaría la velocidad del movimiento dentario, siendo anabólico en condiciones solo fisiológicas o en fase de reparación como puede ser la retención postortodóncica, en el que aplicas la vibración sin aplicar ningún tipo de fuerza y disminuyen los marcadores inflamatorios (Alikhani M, 2018b).

La vibración queda definida por tres llaves: frecuencia, medida en hercios (Hz) es una magnitud que mide el número de repeticiones por unidad de tiempo, amplitud entendida como la extensión del movimiento oscilatorio y por último, la dirección del movimiento de vibración (Shah A, 2017). La fuerza ortodóncica estimula a las citoquinas y quimioquinas en el periodonto, las cuales estimulan a los precursores de osteoclastos a través de la señal RANK/RANKL/OPG, promoviendo la osteoclastogénesis. Como se ha comentado, RANKL es un biomarcador secretado por osteoblastos, responsable del recuento, diferenciación y supervivencia de los osteoclastos. Su unión con RANK induce la diferenciación de osteoclastos maduros. La OPG, producida igualmente por osteoblastos, actúa sobre el receptor soluble de RANKL, inhibiendo la diferenciación osteoclástica (Chouinard MC, 2016).

Es importante conocer que las citoquinas son las moléculas que regulan el proceso inflamatorio mediante la influencia de diversos procesos biológicos como la función inmune y activación celular, proliferación y supervivencia. Entre ellas se encuentra, el factor de necrosis tumoral alpha (TNF- α) y las interleuquinas, envueltas en la osteoclastogénesis. La IL-1, IL-6, IL-8 e IL-17 son reguladores del remodelado óseo, la IL-1 β media en el proceso inflamatorio y aumenta en el fluido crevicular tras la aplicación de la fuerza. Por último las metaloproteinasas (MMPs) juegan un rol importante en el colágeno y se encuentran aumentadas en el fluido crevicular (Chouinard MC, 2016).

Nishimura en su trabajo investigó el posible aumento de la velocidad del movimiento dentario con el uso de vibración y su efecto a nivel radicular. Determinó que se producía la misma reabsorción radicular en todos los grupos y que el RANKL aumentaba en las zonas de compresión, además de aumentar velocidad del movimiento respecto al grupo control. La vibración se administraba una vez por semana llegando a la conclusión que era mejor las fuerzas intermitentes. Se determinó además las diferencias entre vibración de resonancia y la ultrasónica, siendo la primera mejor que la segunda al producir esta última alteraciones pulpares tras aumentar la temperatura (Nishimura M et al., 2008).



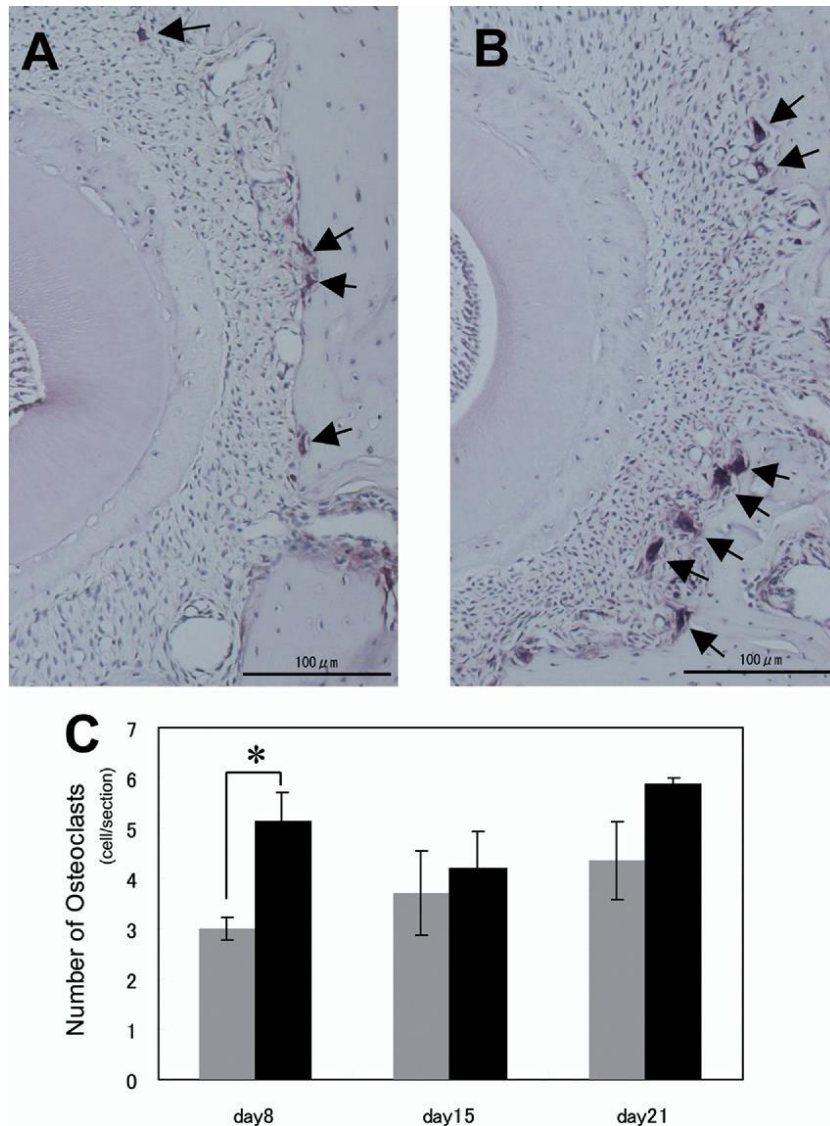


Figura 6. **A y B,** Comparación histológica de la distribución osteoclástica a los 8 días en ratas. PDLs con y sin vibración. Fueron observadas muchas TRAP-positivas en la superficie del hueso alveolar en el grupo RV (**B**) comparado con el grupo C (**A**). **C,** número de osteoclastos en día 8, 15 y 21, siendo estadísticamente significativo la diferencia a los 8 días (Nishimura M, 2008).

Uno de los mecanismos biofísicos sugeridos tras aplicar vibración postula que la porosidad lacunar-canalicular del fluido intersticial es el que provoca una carga inducida y facilita la mecanotransducción alveolar. Los osteocitos detectan cambios en el quimiotransporte, tensión y/o potencial de la membrana y se produce la remodelación.

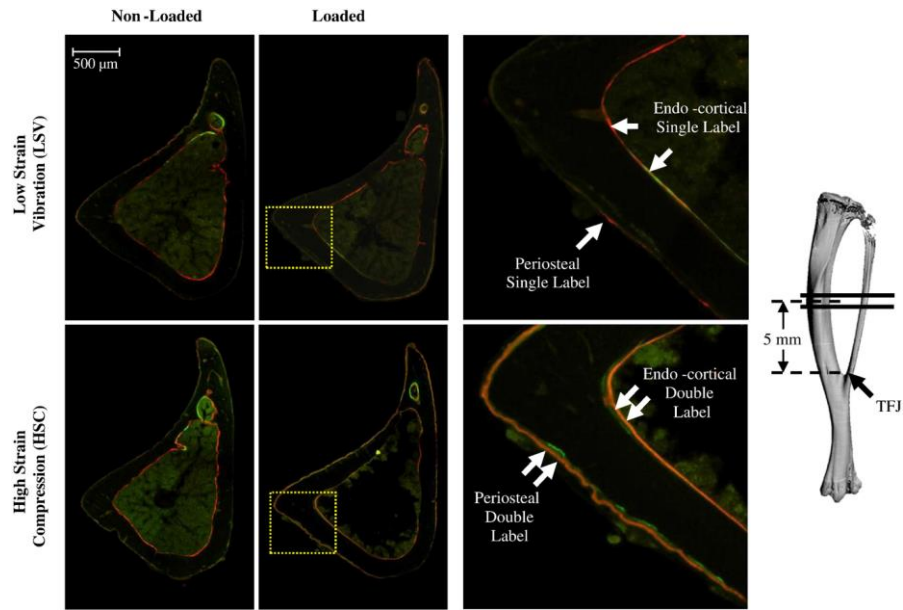


Figura 7. Sección d tibias de ratón LSV vs HSC mediante inmunofluorescencia (Kotiya A et al., 2011)

En este estudio, en que se seccionaron tibias de ratón, se observó cómo hay mayor respuesta en aquellos donde se aplica compresión de alta tensión (HSC) que en vibración de baja tensión-LSV-70 Hz con una deformación tibial de $300 \mu\epsilon$), formándose doble capa periosteal en el HSC.

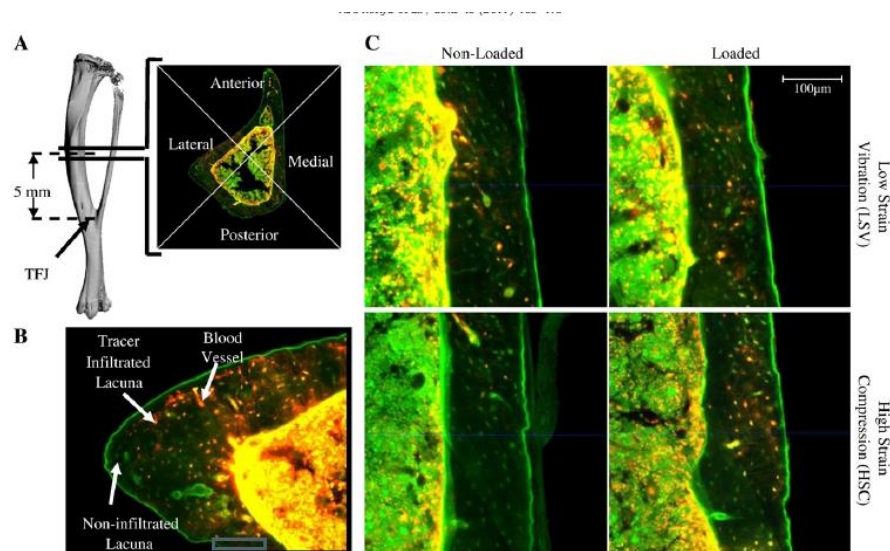


Figura 8. A, sección de tibia dividida en cuatro cuadrantes. B, lagunas infiltradas -naranja-, no infiltradas -verde- y vasos sanguíneos. C, imágenes de tibia con o sin carga con los dos tipos de vibración (Kotiya A et al., 2011)

La infiltración de Tracer en los canalículos óseos mejoró en LSV y HSC. Respecto a la expresión genética mecanosensible y los genes relacionados con la diferenciación, se observó un aumento a las 4 horas disminuyendo estas cifras a los 4 días. Estos datos se invirtieron con los genes relacionados con la mineralización y se observaron osteoblastos maduros en HSC a los 4 días. LSV puede que no diese los resultados esperados ya que se utilizó un umbral menor al requerido para la formación ósea en comparación con otros estudios. La vibración de baja tensión si produce un aumento del transporte celular pero no es suficiente para la estimular la formación de hueso cortical en ratones adultos (Kotiya A et al., 2011).

La baja magnitud (LM; $<1xg$, donde $g=9.81\text{ m/s}^2$), alta frecuencia (HF;20-90 Hz) pueden influenciar en la homeostasis ósea con vibraciones verticales, estimulando la tasa anabólica en ratones y humanos, favoreciendo la mineralización ósea. La regulación celular y molecular de este proceso es aún desconocido. Como resultado en este estudio, se observó una disminución de PGE_2 y un aumento de expresión de COX 2 frecuencia dependiente. Disminuyó los niveles de RANKL, sobre todo con 60 Hz, algo antagónico a lo afirmado por Nishimura M. La baja frecuencia se ha observado que actúa sobre las células deformándolas mientras que la alta frecuencia activa a las células óseas directamente, independientemente de la deformación o no celular (Lau E et al., 2010; Peptan A et al., 2008).

Como estudios in vivo, uno de los más destacados es el de Miles et al. (2016). Es un RCT en el que evalúan el rango de movimiento y el dolor en 66 pacientes, divididos en dos grupos uno al que se aplica vibración y otro al que no, durante 10 semanas. Fue catalogado de alto riesgo de sesgo porque los pacientes no estaban ciegos y el dolor es complicado medirlo sólo mediante la escala de VAS (Aljabaa A et al., 2018).

Otro de los estudios importantes en este campo es el de Pavlin, D et al. (2015), en el que se midió la velocidad de distalización de los caninos superiores usando anclaje esquelético posterior en pacientes que utilizaban Acceleident®, respecto al grupo control que no lo aplicaba. Se determinó que existía una diferencia de 0.37 mm/mes, siendo el de mayor movimiento/mes, el grupo de Acceleident® (Pavlin et al., 2015), aunque se ha hallado sesgo por la calidad de la revista y porque Acceleident® era patrocinador del estudio (Aljabaa A et al., 2018).

En esta concatenación de estudios, el de Woodhouse NR et al. (2015) en el que se estudiaron 81 pacientes, divididos en 3 grupos. Se extrajo el 1º premolar y se observó mediante el índice de irregularidad de Little, el rango de movimiento y el tiempo requerido para completar la alineación. Los autores concluyeron que no había aumento de velocidad en el rango de movimiento, a diferencia de los anteriores. Pero de nuevo lo categorizaron con un riesgo alto de sesgo en cuanto al cegamiento de los participantes. Otro estudio de los mismos autores en el que observaron el espacio de extracción mandibular, no obtuvo diferencias significativas, concluyendo que el cierre de espacio estaba influenciado por el sexo, el lugar de la extracción y la cantidad de espacio inicial por cerrar. (Aljabaa A et al, 2018).

Miles P et al. (2016) evaluaron el efecto de Acceleident® en la alineación anteroinferior mediante el índice de irregularidad de Little en 40 pacientes durante 10 semanas y de nuevo el dolor. No encontraron diferencias significativas entre ellos pero de nuevo tuvo sesgo porque no aportaron suficiente información en el estudio (Aljabaa A et al., 2018).

Katchooi M et al. (2018), estudiaron cuanto tiempo tardaron los participantes del estudio en completar el primer set de alineadores y la alineación mediante el índice de irregularidad de Little. No encontraron diferencias significativas en cuanto alineación y

el dolor solo fue menor en el grupo de AcceleDent® en el día 3 del uso de alineadores. De nuevo el patrocinador era la propia marca del dispositivo (Aljabaa A et al., 2018).

En contraposición a estos estudios, la aceptación de que el movimiento dental es el resultado de la respuesta directa de las células óseas (osteocitos) a la estimulación mecánica es incorrecta. Basado en este principio biológico nunca se moverán dientes anquilosados. Además, todos los estudios en huesos largos y hueso alveolar demuestran los efectos osteogénicos de vibración con el incremento de densidad ósea sin efectos resortivos aparentes, lo que llevaría a pensar que tiene un efecto más que de acelerar de demorar el rango de movimiento. Sin embargo, podría tener otras vías de actuación diferentes a la acción directa sobre las células óseas que acelerase el proceso (Alikhani M, 2017b). Lo que sí parece que produce, es una aceleración de los procesos de curación, por ejemplo en espacios de extracción, promoviendo mayor cantidad y calidad ósea, con una mejoría del trabeculado óseo del 63% y un 28% más de densidad mineral que en el grupo control in vitro (Alikhani M et al., 2016).

En resumen, no es bien conocida la significación estadística in vivo. Los estudios aportados como el de Miles P et al. (2012), en el que se afirma una aceleración de movimiento en boca, no refleja ni siquiera el protocolo seguido en el estudio. A igual, el de Pavlin D et al. (2015), es definido como alto riesgo de sesgo en mucho de los puntos estudiados. Ninguno de los estudios evaluó la influencia de la vibración sobre la duración total del tratamiento (El-Angbawi A et al., 2015).

II.3.2 QUIRÚRGICOS

Corticotomías

Las corticotomías aparecieron debido a que muchos pacientes de ortodoncia demandaban en su tratamiento el no realizar extracciones o cirugía ortognática para llevarlo a cabo, y principalmente, por la duración del mismo: entre 18-31 meses en función de las opciones terapéuticas y las características individuales del paciente. Existen diferencias psicológicas y físicas entre los pacientes adultos y los niños, ya que no hay crecimiento, además de mayor hialinización, las fibras colágenas tienen una movilización más lenta y también encontramos mayores problemas periodontales (Hassan A et al., 2010; Payam A et al., 2010; Yi J et al., 2017).

La realización de corticotomías en combinación con el tratamiento ortodóncico presenta ciertas ventajas más allá de la disminución del tiempo, como la mejora de la condición periodontal del paciente y la disminución de reabsorciones radiculares tras el tratamiento.

En las corticotomías, según Wilcko MT et al. (2008), el aumento de velocidad del movimiento dental subsecuente a la cirugía se debe al grado de la alteración metabólica del tejido per se.

El trauma provocado en la cortical alveolar a través de las corticotomías induce a un fenómeno transitorio de desmineralización/remineralización en el hueso alveolar que se corresponde con una fase inicial del proceso de curación normal. Esta respuesta ósea a las fracturas desarrollada por Frost HM (1989) y descrita por Jaffe N et al. (1994) en la literatura periodontal y por Lee W y Ferguson DJ (2008), ha sido denominado fenómeno acelerador regional (RAP). El levantamiento de un colgajo también produce RAP pero este es insuficiente para acelerar el movimiento dentario. Al potenciarse el RAP, la

curación ocurre de 2-10 veces más rápido, siendo el grado y la duración de la respuesta directamente proporcional a la intensidad y proximidad de la agresión quirúrgica fisiológica.

En la fase inicial del RAP se produce una osteopenia transitoria: existe un gran incremento del recambio óseo (turnover) en la superficie del hueso trabecular, el número de osteoblastos disminuye en el hueso medular y se incrementa la porosidad del hueso cortical (Stöber Blázquez E et al., 2010). Esta osteopenia se puede prolongar por carga mecánica de ortodoncia durante 3-4 meses, por eso la activación ortodóncica se hace cada dos semanas (Cano J et al., 2012). La actividad osteoclástica se mide por una disminución del isótopo ^{45}Ca , que ocurre durante la primera semana y alcanza su máximo en el día 21. La decorticación alveolar selectiva triplica la respuesta catabólica y los procesos anabólicos a la semana 3 postcirugía, alcanza el pico entre el mes y los 2 meses postcirugía y puede tardar en normalizarse de 6 a 2 años (Stöber Blázquez E et al., 2010). Si lo dividiéramos en fases se produce en primer lugar una muerte celular que activa la respuesta celular a la lesión creada, se reactiva la constricción vascular con el subsiguiente hematoma o coágulo a las pocas horas y se completa esta fase a los 7 días del daño tisular. Posteriormente hay un agregado de fibroblastos y otras células de sostén asociada con estos vasos sanguíneos (tejido de granulación, 2 semanas), se desarrollan los condroblastos y forman el cartílago hialino. Las células distales del periostio forman los osteoblastos. En la segunda fase, se produce hueso laminar del cartílago hialino (mineralización). Entre la formación del callo y la mineralización pueden pasar de 1-4 meses, 30 dependiendo de la extensión de la lesión, aunque la remodelación funcional del hueso laminar puede durar de 1-4 años. La respuesta depende del tiempo y proximidad de la lesión, aumenta 3 veces el número de osteoclastos al igual que la tasa de aposición y disminuye 2 veces la calcificación de la esponjosa. Teixeira C et al. (2010) hicieron un

estudio en el que se dividió en 3 grupos, 48 ratas adultas. Al primer grupo solo se aplicó fuerza ortodóncica, al segundo fuerza junto con levantamiento de colgajo y al tercero fuerza, colgajo y 3 perforaciones en la cortical observándose en este último mayor concentración de citoquinas, mayor número de osteoclastos y mayor remodelación ósea (Buschang et al., 2012). Otro de los estudios histológicos muestra una fase intermedia entre la reabsorción y la mineralización llamada sustitución que se produce aproximadamente a los 21 días (Cano J et al., 2012; Cohen G et al., 2010).

La matriz del tejido blando colagenoso desmineralizado del hueso y las islas de hueso osteoide que quedan tras el proceso de desmineralización pueden ser transportadas rápidamente junto con las superficies radiculares a la posición deseada durante el movimiento ortodóncico; de aquí que se conozca el proceso con el término de “transporte de la matriz ósea”.

El incremento en el recambio óseo y la disminución de la densidad ósea transitoria, además de aumentar la velocidad del movimiento, también son responsables de la disminución de la reabsorción de las superficies radiculares, esto ofrece una ventana de entre 3-4 meses para mover los dientes más rápidamente antes de que el hueso se remineralice. Y aunque podría pensarse que el hecho de realizar una segunda corticotomía pasadas 4 semanas podría mantener la velocidad del movimiento por más tiempo, las diferencias obtenidas en cuanto a movimiento dental no parecen justificar una segunda cirugía.

Una vez finalizado el tratamiento de ortodoncia, se crea un entorno que favorece la remineralización alveolar completa. El nuevo hueso formado tarda en mineralizarse nuevamente entre 20-60 días. Sin embargo, las respuestas biológicas de ambos procedimientos (distracción y corticotomía) son completamente diferentes: las osteotomías en el hueso alveolar producen cambios que se asemejan a sitios de distracción

distal, mientras que en las corticotomías producen una pérdida de hueso que da soporte a las raíces dentales, típica del RAP, que facilita su movimiento.

La causa subyacente de las diferentes respuestas óseas, radica en la elevada movilidad del segmento osteotomizado en la distracción, cuya curación se asemeja al de una fractura. La curación postcorticotomía expone el sitio quirúrgico a un proceso de curación potenciado mientras se mantiene el segmento afectado estable.

Las técnicas de corticotomía alveolar selectiva son: movimiento de bloques óseo, corticotomía alveolar selectiva, decorticación alveolar selectiva, ortodoncia rápida y ortodoncia osteogénica periodontalmente acelerada (Stöber Blázquez E et al., 2010).

Cuando se realiza experimentación animal hay que tener en cuenta que la tasa de recambio óseo es 1.5 mayor en animales (perros) que en humanos por lo que en humanos hay un rango de 2-3 meses para acelerar el proceso produciendo 4-6 mm de movimiento por mes, siendo el doble de movimiento que si no se hace corticotomía (Buschang P et al., 2012).

El movimiento de bloques óseos (bony-block) y el uso por tanto de corticotomías como coadyuvante de los tratamientos para la corrección de maloclusiones fue descrito por L.C. Bryan y Cunningham E en 1892 y 1893 respectivamente, sin embargo, Krole fue el que lo reintrodujo en 1959. Esta técnica se basaba en que la principal estructura que impide el movimiento dentario son las corticales y, por tanto, se realizaban cortes interdientales y osteotomías a través de las corticales 10 mm por encima de los ápices consiguiendo pequeños bloques de hueso. Se consideraban independientes y estaban unidos únicamente por hueso medular menos denso, manteniéndose así la integridad estructural durante la curación. Sin embargo había gran limitación en la técnica ya que los dispositivos ortodóncicos removibles de la época eran insuficientes para promover

estabilidad además de ser una técnica invasiva por lo que se limitó su uso (Thafeed AlGhamdi A, 2010, Stöber Blázquez E et al., 2010). La técnica descrita por Chung combina los cortes con fuerzas ortopédicas a través de dispositivos de anclaje intraóseo, generalmente miniplacas o implantes en “C”, generando una osteogénesis de compresión en el segmento corticotomizado durante la tracción que permite su movilización.



Figura 9. Osteotomía y miniplaca para intrusión molar (Jing Jong, 2012)

La corticotomía alveolar selectiva (corticotomy-facilitated orthodontics), realiza cortes horizontales supraapicales limitados a la cortical ósea vestibular y lingual sin penetrar en la medula. En casos de extracción se aconsejaba realizar la remoción ósea en el alveolo de extracción por vestibular y lingual o palatino para permitir la conservación de la matriz de colágeno del hueso que acompaña al diente y para acelerar la distalización del canino. En 3-4 meses el tratamiento de ortodoncia debería estar completado.

La decorticación alveolar selectiva (selective alveolar decortication) es la utilizada hoy en día y fue puesta de actualidad por los hermanos Wilko (ortodoncista y periodoncista) en 2001 y patentada con el nombre de ortodoncia osteogénica periodontalmente acelerada (PAOO). Mediante TC, sugirieron que la celeridad del movimiento dental se explicaba por el grado de desmineralización y remineralización que forma parte de la fase inicial del RAP que ocurre en el hueso alveolar durante el movimiento fisiológico, en vez de atribuirse al movimiento de bloques óseos o los fenómenos de reabsorción y aposición, como se había sugerido anteriormente (Stöber Blázquez E et al., 2010).

La técnica se basa en la elevación de un colgajo de espesor total, realizar la corticotomía vertical en los espacios interradiculares con fresa de bola manteniendo una distancia a la cresta ósea de 2-3 mm y sobrepasando el ápice dental 2 mm, se unen las corticotomías verticales con las horizontales y se sutura (Ryuji S et al., 2012) activando el movimiento cada 14 días. Las ventajas de esta técnica son la visibilidad, la posibilidad de poner un injerto y poder hacerla con fresa o bisturí piezoeléctrico. Las desventajas son las complicaciones postquirúrgicas como equimosis, inflamación y dolor y el tiempo quirúrgico es prolongado (Robles Andrade M et al., 2011).



Figura 10. Decorticación alveolar selectiva (Robles Andrade M et al., 2011)

La PAOO se desarrolla en tres fases. La primera, es la decorticación alveolar selectiva, en la cual se realizan incisiones sulculares en ambas superficies del alveolo, con una profundidad de 0.5 mm limitados a las corticales vestibular y lingual mediante una fresa de bola de pieza de mano. La finalidad de estos cortes es crear una fina capa de hueso (menor de 1.5 mm) alrededor de la raíz de los dientes y maximizar el sangrado. En una segunda fase se incorpora material reabsorbible en las áreas de decorticación como es el Bio-OSS de 0.25-1mm, mojado en 5-10 mg/ml de fosfato de clindamicina o plasma rico en plaquetas sin empaparlo para no interferir en reposicionamiento del colgajo, siendo opcional la colocación de membranas de colágeno reabsorbibles. La última fase consiste en la colocación de la aparatología 1 semana antes de la corticotomía, aunque puede demorarse 1-2 semanas postcirugía para facilitar el procedimiento. El tratamiento de ortodoncia se pospondrá 2 semanas como máximo tras la corticotomía, siendo el ritmo

de las activaciones cada 2 semanas. La tasa de movimiento es de 1-2 mm/semana, frente al milímetro mensual obtenido mediante tratamiento ortodóncico convencional.

Tras la técnica de Wilcko varios autores han proporcionado modificaciones de la misma. La técnica de dislocación dental monocortical y distracción del ligamento periodontal (MTDLD, Vercellotti T y Podesta A (2007)) se desarrolla inicialmente a través de una presión dental que produce una compresión periodontal en la que existe movimiento rápido (dislocación) de la raíz y de la unidad cortical ósea sin compresión del ligamento ni reabsorción ósea (MTD), seguida de una dislocación rápida de las fibras del ligamento periodontal que finaliza con un proceso de curación osteogénica. Prevenían así los daños de los tejidos periodontales al realizar los cortes mediante bisturí piezoeléctrico con los que las corticotomías eran más seguras y precisas, el control quirúrgico era máximo, la acción de corte era selectiva y la morbilidad era mínima, promoviendo mejor recuperación de los tejidos. La diferencia con la técnica de Wilcko entre otras es la corticotomía monocortical, es decir solo se realizaba en aquella que favoreciese la dirección del movimiento, ya que se ha demostrado que es suficiente para estimular el movimiento dental a través del RAP. En la cortical vestibular se realizan cortes longitudinales interproximales de 0.5 mm de profundidad, así como un corte horizontal entre 1-2 mm por encima de los ápices de la misma profundidad acabados en “Y” para favorecer la preservación de la cresta ósea; en casos de intrusión, la remoción de hueso mediante los cortes horizontales se corresponderá a la cantidad de intrusión que se desee. En la cortical palatina se realizan cortes de igual forma (si el movimiento deseado es de retracción), aunque de mayor profundidad: 4-4.5 mm. El aumento alveolar es en aquellos casos donde se requiera un aumento de espesor de la cortical ósea vestibular mediante hueso autólogo. Éste se recubre mediante una membrana reabsorbible (Bio-Gide). En cuanto a la aplicación de las fuerzas estos autores prefieren comenzar 1-7 días

tras la intervención y manteniendo un ritmo de activación cada dos semanas. Asimismo como estos autores utilizan técnicas de baja fricción se recomienda la revisión de los pacientes cada semana por si existiese interferencia en el deslizamiento que pueda disminuir la efectividad del mismo (Murphy N et al., 2012).

Las ventajas que se encuentran sobre tratamiento ortodóncico asociado a corticotomías alveolares son; la disminución del tiempo de tratamiento ya que, respecto al convencional, en función del caso y el movimiento a realizar, puede ser del 70%. Esta tasa de movimiento varía según los artículos y el tiempo postcorticotomía (Fleming P et al., 2015). Al mes, 1.89 vs 0.75 mm sin tratamiento quirúrgico, a los 2 meses es de 1.83 vs 0.86 mm y a los 3 meses 1.07 vs 0.93 mm (Long H et al., 2013). Histológicamente a las 3 semanas existe una actividad catabólica en la que existe un recuento de osteoclastos, una actividad anabólica en el que aumenta la tasa de aposición (tres veces mayor la actividad anabólica) y disminuye la calcificación de la esponjosa. Presenta además un menor coste biológico ya que disminuye el porcentaje de reabsorciones radiculares, en los incisivos superiores aproximadamente el 50% (1.1mm) en comparación con los tratamientos de ortodoncia convencional. Además, puede haber mejoría en la condición periodontal y cambios óseos morfológicos, se ha observado una disminución del 20% de recesiones gingivales y ausencia de bolsas. Además, existe una mejoría de las dehiscencias y cubrimiento de fenestraciones a través de tomografías alveolares a los 3 años postretención, especialmente por vestibular del sector anteroinferior. Gracias a la colocación de injertos óseos que forman parte del PAOO, Wilcko MT et al. (2008) han observado un aumento del volumen alveolar en la zona de injerto. También de forma indirecta hay menos riesgo de descalcificación del esmalte al disminuir el tiempo de tratamiento. Existe mayor estabilidad que en el tratamiento convencional de ortodoncia, en los que menos del 30% de los casos tratados son estable a los 10 años post tratamiento.

Con las corticotomías se aumenta el grosor de la cortical alveolar, aunque el verdadero motivo de la estabilidad en estos tratamientos es la pérdida de memoria del periodonto, derivada del proceso de desmineralización/ remineralización del alveolo original y la formación de nuevo hueso, una vez ha finalizado el movimiento ortodóncico. Existe además un mayor rango de movimientos aumentando al doble o triple los límites de movimiento dentario descritos por Ackerman JL y Proffit WR (1994), en cualquier plano excepto en casos de retracción de incisivos. De este modo esta técnica puede reducir la necesidad de realizar extracciones al resolver casos de discrepancia óseodentarias de hasta 10/12 mm. Las corticotomías puede potenciar el método de anclaje diferencial además de ser aplicable a cualquier técnica ortodoncica (Invisalign® puede resolver casos leves de discrepancia óseodentaria en 8 semanas cambiando los alineadores cada 3-4 días).

Las indicaciones para este tipo de técnicas descritas hasta el momento han sido:

- Intrusión/Extrusión: Moon W et al. (2007) encontraron una intrusión con anclaje óseo de 3 mm en 2 meses frente a los 4 mm en 2,5 meses de Olivieri DF et al. (2010) y 3-4 mm en 4 meses en otro paciente, por lo que no hay unanimidad entre autores. Sin embargo, el menor riesgo de reabsorciones radiculares es suficiente para indicar esta técnica (Stöber Blázquez E et al., 2010; Cano J et al., 2012)
- El enderezamiento molar: Tampoco se encontraron diferencias significativas al momento, ya que se tardaban de 7 a 9 meses.
- Caninos incluidos: Se tuvo una disminución de tiempo de tratamiento del 28 al 33% con respecto a los contralaterales.
- Distalización molar: La distalización molar en 2 meses tras la realización de corticotomías alveolares y ortodoncia, finalizando el tratamiento en 12 meses. (Stöber Blázquez E et al., 2010; Amit G et al., 2012). En otro de los estudios se analizó la distalización en un grupo en el que se realizaba las corticotomías con

pieza de mano y otro en el que se hacía con piezocirugía y añadiendo factores de crecimiento. En el segundo grupo se obtuvieron mejores resultados en cuanto a distalamiento y anclaje ortodóncico (Spena R and Turatti G, 2011).

En cuanto a movimientos dentarios en masa, se puede realizar:

Discrepancias óseodentarias maxilares y mandibulares a nivel sagital de hasta 10-12 mm, transversal de 8 mm, llegando a resolver compresiones dentoalveolares maxilares en 12 semanas sin observarse una apertura significativa de la apertura palatina media, ni un diastema entre los incisivos centrales superiores. De esta manera se provee mayor estabilidad y mejores condiciones periodontales. Se puede obtener una expansión diferencial unilateral de forma más controlada evitando efectos secundarios de la corrección del lado no afecto, el canteo del lado oclusal y el compromiso de la dimensión vertical del paciente. Aun así, no es una alternativa al SARPE en los casos indicados (Stöber Blázquez E et al., 2010, Hassan A et al., 2010).





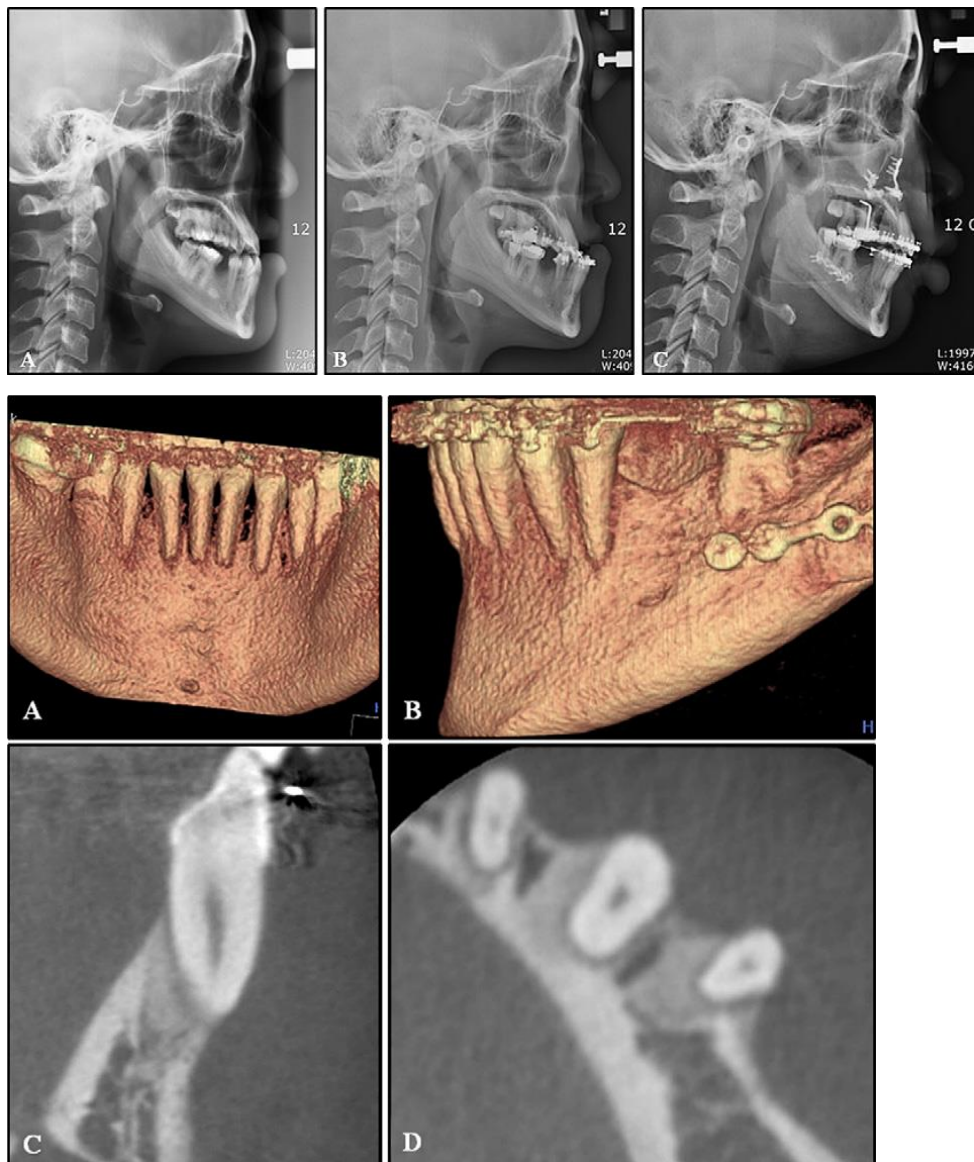
Figura 11. Expansión con corticotomía (Hassan A et al., 2010)

Wilcko MT et al. (2009) realizaron retracción de incisivos en 3 semanas resolviendo el caso en 6 meses. En las técnicas descritas para la retracción de incisivos no se realizan cortes horizontales subapicales en la cortical lingual para preservar el aporte sanguíneo de la región mandibular dentoalveolar. En masa también son los movimientos de la mordida abierta anterior, cerrando la mordida en una media de 6 semanas y observando la persistencia de sobremordida a los 2 años post tratamiento.

Otra de las indicaciones es la periodontal, ya que las corticotomías podrían mejorar el aumento de altura y/o anchura del hueso alveolar en cuanto a rapidez y cantidad al colocar un injerto. Además, se promueve la curación mediante el sangrado dado que el coágulo desprende citocinas y factores de crecimiento que atraen a células precursoras y vesículas sanguíneas y que mejora la unión física entre hueso e injerto.

En cuanto a las contraindicaciones, por un lado, está la medicación en aquellos pacientes con suplementos de calcio o medicaciones a largo plazo como bifosfonatos, inmunosupresores o esteroides, los cuales interfieren en el RAP al disminuir el recambio óseo por aumentar la captación de calcio. Los AINES interfieren en el proceso inflamatorio sobre la producción de prostaglandinas, y la osteopenia que ocurre como parte del RAP se considera un proceso inflamatorio estéril. El coste adicional del

tratamiento limita en ocasiones la realización de corticotomías (Thafeed AlGhamdi A, 2010; Ryuji S et al., 2012). Los pacientes con algún signo de enfermedad periodontal activa y con problemas endodónticos tratados de forma inadecuada pueden limitar la realización de la técnica. Otra limitación es la anquilosis del ligamento periodontal ya que se impide el proceso. En las biprotrusiones bimaxilares acompañadas de sonrisa gingival se beneficiarían más de una osteotomía segmentaria. Respecto a los pacientes clase III esquelética que se sometan a cirugía ortognática, se aconseja la realización de corticotomía anteroinferior para prevenir efectos secundarios por un periodonto deficiente (Hassan A et al., 2010).



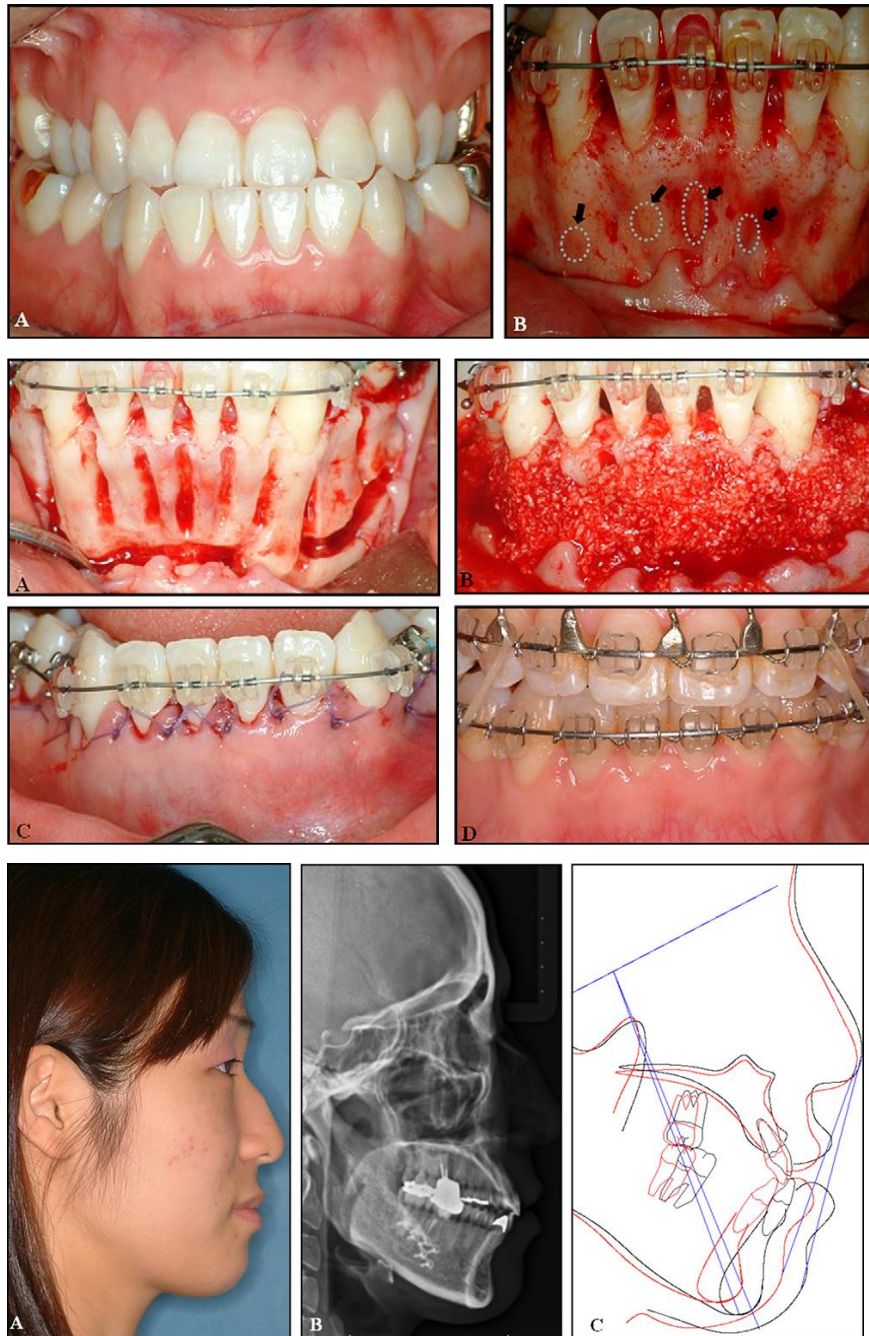


Figura 12. Caso clínico: paciente clase III esquelética tratada mediante cirugía ortognática y corticotomías de 35-45 (Kim SH, 2011)

Las complicaciones más destacadas en estas técnicas son en su mayor parte dentales y periodontales: posible pérdida de papila interdental, disminución de la encía insertada, recesiones gingivales, reabsorción del hueso alveolar y defectos periodontales en casos en casos de distancia interdental corta. Es necesario controles periodontales mensuales y una buena preservación de la papila interproximal así como ausencias de bolsas mayores

de 3 mm, necrosis, recesión gingival mayor de 1mm, pérdida de altura del hueso alveolar en las radiografías y reabsorción radicular en las mismas. Pueden aparecer hematomas subcutáneos en la cara y cuello tras realizar las corticotomías intensas. Se requiere más estudios a boca partida para evaluar la eficacia de diferentes técnicas ante una misma indicación a fin de concretar cuál sería más conveniente en unos casos y cual en otros, además de verificar la estabilidad postortodoncia con el paso del tiempo ya que no hay artículos que lo refuten.

Piezoincisión

Otro de los procedimientos es la cortocisión en 2009 por Kim, Park y Kang. No requiere levantamiento de colgajo mucoperióstico por lo que se evitan las posibles complicaciones derivadas del mismo (reabsorción de la cresta alveolar, dehiscencias alveolares y recesiones gingivales). Esta técnica consiste en la realización de cortes longitudinales interproximales en la corticales vestibular y palatina o lingual de forma transmucosa, es decir, sin levantamiento de colgajo. Las corticotomías se realizan con un martillo quirúrgico posicionado entre 45-60° al eje longitudinal de los dientes y preservando la cresta alveolar al mantenerse a una distancia de 2 mm de la papila (el mantenimiento de la preservación de 2 mm la cresta marginal fue introducido por Duker J en 1975 (Thafeed AlGhamdi A, 2010), el mismo que estudió la vitalidad pulpar y el periodonto en estas técnicas) (Cano J et al., 2012). La fuerza ortodóncica se aplica de forma inmediata cada dos semanas. Esta técnica solo se ha descrito en gatos, activándose la fuerza cada 3 días, desconociéndose por tanto los efectos clínicos en cuanto a la tasa de movimiento y duración del tratamiento en humanos. Aun sabiendo de su efectividad, esta técnica no ofrece ventajas como otras ya que por ejemplo no permite aumento alveolar mediante injertos de tejido óseo en zonas donde se requiere expansión alveolar.

La piezoincisión surge en 2009, como alternativa al trauma generado por la elevación de grandes colgajos y la extensión de las corticotomías. A diferencia de estas, se realizan únicamente en la cortical vestibular, de forma longitudinal en el hueso alveolar interproximal y preservando las papilas interdentes, inicialmente se efectúan microincisiones transmucosas con un bisturí para posteriormente realizar cortes de aproximadamente 3 mm de profundidad en la cortical mediante un bisturí piezoeléctrico. Se pueden realizar injertos mediante técnica de tunelización, en el que se recomienda suturar las zonas en las que se han realizado injertos dejando cicatrizar las restantes áreas por segunda intención. Las ventajas de esta técnica es que es rápida (media de 1 hora para corticotomías en ambas arcadas), mínimamente invasiva y menos traumática que otras ya que no requiere elevación del colgajo mucoperióstico y los cortes solo se requieren en la cortical vestibular y con un bisturí piezoeléctrico para la preservación de los tejidos blandos.

Al igual que las corticotomías requieren de un cirujano para mejorar nuestro procedimiento clínico (Alikhani M, 2017b; Robles Andrade M et al., 2011).



Figura 13. Piezoincisión y tunelización para injerto (Robles Andrade M et al., 2011)

Micro-osteoperforaciones

Técnica con un enfoque innovador, menos invasivo y más eficiente que ha surgido para disminuir el trauma óseo de los pacientes. Consiste en realizar osteoperforaciones pequeñas y superficiales que pueden realizarse tanto en la zona vestibular como lingual de los dientes. Se realizan en aquellas zonas en las que el movimiento es comprometido y puede ser realizada por el ortodoncista. La aplicación de esta técnica tanto en estudios in vitro como in vivo ha producido un aumento de la inflamación, la actividad de los osteoclastos y remodelación ósea (Alikhani M, 2017b).

En uno de los estudios in vitro se observó una mayor distalización molar en las ratas en las que se realizaron micro-osteoperforaciones (Teixeira C et al., 2010).

Los estudios en humanos muestran similares resultados. Uno de los estudios más relevantes analizó esta técnica dividiendo a los pacientes en el grupo control; 3 hombres y 7 mujeres y en el experimental; 5 hombres y 5 mujeres. Las maloclusiones eran

similares, así como los criterios de inclusión. El plan de tratamiento de todos ellos consistía en la retracción del canino. En el grupo control se realizaban 3 osteoperforaciones entre canino y premolar, mientras que en el lado contralateral sólo servía como control. Entre premolares se introducía un minitornillo para conseguir anclaje esquelético. Los resultados mostraron un aumento de la velocidad de movimiento del doble respecto al control, acercándose a los resultados obtenidos en ratas (Alikhani M, et al., 2013).

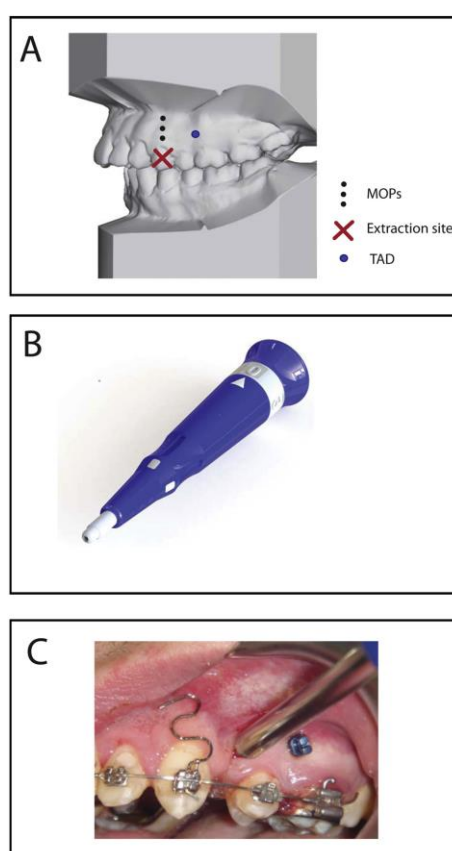


Figura 14. A. Dispositivo de anclaje temporal (TAD) entre segundo premolar y molar a 5 mm de la cresta alveolar. Se realizaron tres pequeños MOP en la zona de extracción de 2-3 mm de profundidad. B, dispositivo portátil de Propel Orthodontics (Ossining, NY) para realizar MOP. C, aplicación clínica de MOP (Alikhani M et al.,2013)

El protocolo de actuación ortodóncico en todas las técnicas anteriormente descritas sería:

- Programar la técnica en función del movimiento a realizar y, en lo posible, elegir la menos invasiva (piezoincisión o Vercellotti y Podesta). Si se requiere de aumento o remodelamiento óseo, deben emplearse técnicas que lo permitan (piezoincisión, Vercellotti y Podesta o la técnica de los hermanos Wilcko).
- Colocar aparatología previa a la cirugía, únicamente sin arco para facilitar el procedimiento quirúrgico, aunque algunos autores recomiendan cementar la aparatología justo al finalizar la cirugía y lo hacen mediante cementado indirecto.
- Iniciar la ortodoncia inmediatamente tras la cirugía (1-7 días posteriores)
- El ritmo de activación cada 2 semanas, se llegará a la tercera fase ortodónica (19x25 de acero) lo antes posible.
- Para realizar casos en los que se requiera expansión leve, se utilizarán arcos anchos desde el principio. También puede cementarse aparatología auxiliar tipo quad-helix para favorecer la expansión, activándose de forma más frecuente.
- Si se utiliza alineadores estéticos en vez de cada 14 días se deben cambiar cada 3-4 días. Si es técnica de baja fricción, se deberá controlar cada visita cualquier factor que pueda influir negativamente en el deslizamiento de los arcos.
- La fase de acabado y detallado se realizará de forma convencional.

(Stöber Blázquez E et al., 2010)

III. HIPÓTESIS DE TRABAJO

Hasta donde conocemos no existe en la literatura conocimiento sobre la respuesta biológica que se produce en el organismo tras aplicar fuerzas intermitentes vibratorias. Estudiar el posible efecto que la vibración puede provocar a través de la saliva y no solo con parámetros clínicos de medición para observar la aceleración del movimiento, complementará estudios previos y arrojará luz sobre si realmente existe dicha aceleración dentaria.

Este estudio considera la presencia de tres variables independientes (la aplicación de fuerzas intermitentes vibratorias, el momento de aplicación de las mismas y el tiempo de uso de los alineadores transparentes) y dos dependientes, formulando la siguiente hipótesis de trabajo:

“Aplicar fuerzas intermitentes vibratorias mediante Acceledent® aumenta los niveles de RANKL y OPG en fluido crevicular”.

Por tanto, nuestra hipótesis nula sería:

“Aplicar fuerzas intermitentes vibratorias mediante Acceledent® no aumenta los niveles de RANKL y OPG en fluido crevicular”.

IV. OBJETIVOS

La presente memoria de tesis doctoral se fundamenta en el establecimiento de los siguientes objetivos:

- Objetivo general: analizar la relación entre la aplicación de fuerzas vibratorias intermitentes y los niveles de RANKL y OPG en fluido crevicular en pacientes con tratamiento de ortodoncia, para conocer el mecanismo de acción de estos dispositivos de aceleración del movimiento dentario.
- Objetivos específicos:

1. Comparar los niveles de RANKL y OPG, en fluido crevicular, antes de iniciar el tratamiento ortodóncico y en distintos momentos tras iniciar el movimiento, en un grupo de pacientes tratados con alineadores transparentes (Invisalign®).

2. Comparar los niveles de RANKL y OPG, en fluido crevicular, antes de iniciar el tratamiento ortodóncico y en distintos momentos tras iniciar el movimiento, en un grupo de pacientes tratados con Acceledent® mediante alineadores transparentes (Invisalign®).

3. Determinar las posibles diferencias de concentración entre los tres grupos y detallar su posible significado, comparando el uso o no uso de Acceledent® y los distintos tiempos de uso de los alineadores durante diferentes momentos del tratamiento

V. MATERIAL Y MÉTODO

V.1. DISEÑO DE ESTUDIO

V.2. POBLACIÓN DE ESTUDIO

V.2.1 CRITERIOS DE INCLUSIÓN Y EXCLUSIÓN

V.2.2 PRINCIPIOS ÉTICOS

V.3. TAMAÑO MUESTRAL Y PROCEDIMIENTO DE MUESTREO

V.3.1. TAMAÑO MUESTRAL

V.3.2. PROCEDIMIENTO DE MUESTREO

V.4. DESCRIPCIÓN DE VARIABLES Y MÉTODO

V.4.1 DESCRIPCIÓN DE VARIABLES

V.4.1.1. Material

V.4.1.2. Registros

V.4.2 MÉTODO

V.4.2.1 Grupos y visitas

V.4.2.2 Registros clínicos medidos

V.4.2.3 Muestras de fluido crevicular

V.5. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

V.1. DISEÑO DE ESTUDIO

Este es un ensayo clínico aleatorizado con diseño cruzado y paralelo en el que se incluye una muestra de 45 pacientes tratados mediante el sistema de alineadores transparentes Invisalign®.

V.2 POBLACIÓN DE ESTUDIO

La muestra de este estudio estuvo formada por 45 pacientes de etnia caucásica, con edades comprendidas entre los 21 y 60 años, los cuales requerían tratamiento de ortodoncia.

Los pacientes del estudio fueron seleccionados de forma aleatoria entre el Departamento de Especialidades Clínicas Odontológicas (sección de Ortodoncia) de la UCM en Madrid, Clínica Lacasa Litner y Clínicas Ortom Madrid. Tras la exploración inicial y una vez comprobado que cumplían los criterios de inclusión y exclusión, se asignaron aleatoriamente a cada uno de los tres grupos utilizando una lista de números aleatorios generada por ordenador. Todos ellos recibieron explicaciones detalladas de los objetivos y diseño del estudio antes de su comienzo y acordaron participar mediante la firma del consentimiento informado.

El protocolo de este ensayo clínico fue aprobado por el Comité ético para la investigación del Hospital Clínico San Carlos de Madrid, con número de referencia C.P.-C.I: 15/313.

V.2.1 CRITERIOS INCLUSIÓN Y EXCLUSIÓN

Los pacientes han sido tratados de ortodoncia mediante el sistema de alineadores transparentes Invisalign® bajo los siguientes criterios de inclusión y exclusión.

Criterios de Inclusión:

- Sujeto adulto con maloclusión que requería tratamiento de ortodoncia mediante sistema de alineadores transparentes Invisalign®, de más de 6 meses de duración.
- Edad comprendida entre 21 a 60 años.
- Paciente colaborador. Aquel que utilizara Acceledent® según instrucciones aportadas por el personal responsable, que realizase una limpieza con cepillado sin pasta al menos media hora antes de tomar la muestra de fluido crevicular.
- Paciente no fumador
- Paciente con buena higiene oral, que tras las instrucciones de cepillado pertinentes, presentase un bajo índice de placa (Silness and Loe, 1964).

Criterios de Exclusión:

- Sujeto con Enfermedad Periodontal activa (índices de placa >3 y CPITN >2 ; presencia de bolsas periodontales > 4 mm).
- Sujeto que hubiese tenido tratamiento periodontal en los últimos 6 meses excepto profilaxis profesional.
- Sujeto con epilepsia y/o diabetes no controlada.
- Sujeto con patología ósea (artrosis, osteoporosis u otros desórdenes metabólicos con afectación ósea) o enfermedades sistémicas que interfieran en el estudio.
- Sujeto en tratamiento con AINEs, bifosfonatos o con difenilhidantoínas.

V.2.2 PRINCIPIOS ÉTICOS

La participación y datos clínicos de los pacientes se trataron con anonimato y confidencialidad. Si los resultados fuesen publicados en revistas de ámbito científico, todos los datos serán presentados de forma anónima. Los datos personales necesarios para identificar al paciente fueron archivados de modo apropiado y no serán publicados. La protección de datos fue garantizada en concordancia con *la ley 15/99 de Protección de Datos de Carácter Personal*. Los resultados del estudio fueron empleados únicamente con fines de investigación y para el desarrollo de nuevas estrategias de tratamiento, pero nunca con fines comerciales.

La participación en este estudio ha sido voluntaria. Si el paciente decidía no tomar parte en el mismo o abandonarlo, no afectaría en ningún modo, a su relación con los profesionales de la clínica.

Si durante el curso del estudio el paciente decidía detener el tratamiento, tampoco supondría ningún inconveniente para él. Sin embargo, le recomendamos encarecidamente que, una vez iniciado el tratamiento, se llevase a cabo un control clínico para poder monitorizar los resultados del tratamiento efectuado.

De conformidad con la Ley Orgánica 15/1999 de Protección de Datos de Carácter Personal, les informamos que sus datos serían tratados y guardados en el Departamento de Especialidades Clínicas Odontológicas (sección de Ortodoncia) de la Facultad de Odontología de la Universidad Complutense de Madrid (Profa. Concepción Martín Álvaro, como responsable), con el fin de registrar su participación en este estudio. El paciente podría en todo caso, ejercitar sus derechos de acceso, rectificación, cancelación u oposición en este Departamento.

El paciente siempre tenía la posibilidad de plantear cualquier duda que le surgiera, o comunicar cualquier posible efecto adverso. El grupo de investigación podía ser contactado por teléfono o por e-mail.

Si el paciente tenía alguna pregunta que quisiera hacer a alguien que no formase parte del grupo de investigación, le recomendamos que hablase con su odontólogo o que contactase con el Comité Ético de Investigación.

A los participantes que fueron seleccionados para el estudio, se les informó tanto de forma verbal como por escrito de toda la información descrita en el protocolo y adjuntado el consentimiento pertinente.

Se introdujo en el protocolo una hoja de filiación e historia clínica. En la filiación exclusivamente se detallaba el número de paciente sin especificar el nombre, la fecha en la que se había realizado el cuestionario y la fecha en la que el paciente había firmado el consentimiento informado. La historia clínica por otro lado, incluía una historia médica general del paciente y una historia buco-dental.

Durante el tratamiento, en caso de la no colaboración por parte del paciente o desadaptación de los alineadores por cualquier motivo, implicaba el cese del estudio en el mismo.

Historia médica: se preguntó al paciente sobre alergias que pudiese padecer, enfermedades cardiovasculares, alteraciones posibles en el metabolismo de origen endocrino, enfermedades hepáticas-renales, modificaciones a nivel hematológico, enfermedades neurológicas y psiquiátricas.

Historia buco-dental: se llevó a cabo un análisis pormenorizado de caries presentes en la cavidad bucal, obturaciones, endodoncias, coronas, agenesias, traumatismos y/o alteraciones en la forma de los dientes. Además, se observó las técnicas

de higiene utilizadas habitualmente por el paciente, el uso de colutorios y el resultado en la boca del paciente.

Se realizó en todos los pacientes el estudio de ortodoncia habitual que constaba de: fotografías intraorales y extraorales, radiografía lateral de cráneo y ortopantomografía y modelos de estudio de ortodoncia.

V.3. TAMAÑO MUESTRAL Y PROCEDIMIENTO DE MUESTREO

V.3.1. TAMAÑO MUESTRAL

Para realizar el cálculo del tamaño muestral nos basamos en el estudio previo (Kawasaki et al., 2006) donde se establecieron entre los dos grupos de estudio una diferencia media en la cantidad de movimiento dentario durante las fases iniciales (168 horas) de 0,41mm, considerada clínicamente relevante. Los valores medios de RANKL durante ese periodo fueron de 70,075 pg/ μ l (DE: 27,6) y 40,625 pg/ μ l (DE: 25,5) respectivamente. Con estos datos, establecimos un tamaño del efecto de 1,108, seleccionamos una potencia del 80% y un nivel de significación del 5%. El tamaño muestral de cada grupo debía de ser de 14 sujetos. Incluimos un 10% a dicho tamaño para anticipar posibles pérdidas.

V.3.2. PROCEDIMIENTO DE MUESTREO

La **asignación de los pacientes** a cada uno de los tres grupos de tratamiento se hizo de forma aleatoria a partir de una lista de números aleatorios generada por ordenador. El encargado de dicha asignación fue el investigador principal del estudio, y lo hizo sin conocer los datos de identificación de los pacientes. Debido a que el protocolo de aplicación del sistema Acceledent® era diferente en cada grupo, no podía ser ciego

respecto a los pacientes ni a los doctores que administraban el tratamiento ortodóncico, pero sí era ciego a la hora de la medición de las variables respuesta por parte de los investigadores encargados (variables clínicas y determinaciones bioquímicas de los marcadores mencionados). Dichos investigadores desconocían el grupo de asignación de los pacientes que estaban evaluando.

V.4. DESCRIPCIÓN DE VARIABLES Y MÉTODO

V.4.1 DESCRIPCIÓN DE VARIABLES

V.4.1.1. Material

El material empleado para la investigación fue el siguiente:

- Acceledent®: dispositivo de vibración mediante fuerzas intermitentes de 30 Hz (0,3 N/30 g).



Figura 15. Acceledent Aura®

- Sistema de alineadores transparentes Invisalign®.



Figura 16. Paciente tratado mediante alineadores transparentes (Invisalign®)

- Puntas de papel para recolectar el fluido crevicular.



Figura 17. Recogida de muestra de fluido crevicular

- Tubos Eppendorf para recoger puntas de papel.
- Congelador (-5° C)
- Congelador (-80° C)

- Kit de Inmunoanálisis ELISA (Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay) específico para RANKL y OPG.
- Ordenador con Software Office (Excel). Software SPSS version 25.0 (SPSS inc, Chicago, IL).

Alineadores transparentes (Invisalign ®)

El Sistema Invisalign® consiste en una serie de alineadores estéticos removibles, realizados a medida, con un diseño y fabricación asistido por ordenador (CAD/CAM).

Al paciente se le deben ir cambiando estos alineadores gradualmente para provocar una ligera presión sobre los dientes que producirá el movimiento dentario. De esta manera, se llegará a corregir las maloclusiones diagnosticadas previo al tratamiento ortodóncico. Cada uno de los alineadores producirá en cada diente, 0,25 mm de movimiento lineal y 2° de movimiento angular o 1° si se trata de realizar torque (Rojas R et al., 2016).

El paciente debe llevar los alineadores todo el día excepto para las comidas (aprox.22 h/día), produciéndose la sustitución de alineadores cada 2 semanas (14 días).

Para llegar a este punto se debe seleccionar previamente el caso y se toman unos registros en PVS (polivinilsiloxano) o mediante escáner intraoral Itero®. Estos registros se realizan de la arcada superior e inferior del paciente, siendo complementada con un registro de mordida. Las impresiones son tomadas con cubetas de plástico para ser escaneadas con ayuda de un ordenador y enviadas junto al formulario de prescripción, plan de tratamiento y una copia de la documentación del paciente a Align®.

Una vez recibida la información, Align® escanea las impresiones PVS o introduce el escaneado que se haya realizado mediante Itero®, para fabricar unos modelos estereolitográficos en 3D. Tras este proceso, se crea un primer ClinCheck® en que se visualiza todo el desarrollo del tratamiento del paciente. Este ClinCheck inicial es modificado por el especialista a través de las herramientas del programa y con la ayuda del técnico vía on-line hasta conseguir los objetivos determinados al inicio con el paciente.

Una vez aceptado el plan de tratamiento ClinCheck®, se inicia la fabricación de alineadores por medio de unos modelos de resina que refleja cada fase del movimiento y se cortan mediante láser para una mayor precisión y comodidad para el paciente. Una vez llegan los alineadores, se entregan los primeros con las instrucciones pertinentes y un recambio aproximado de 14 días entre ellos.



Figura 18 . Alineador transparente Invisalign®.

(Tomado de <https://learn.invisalign.com/practicedevelopment/toolkit-25/03/2020>)

AcceleDent ®

Se trata de un dispositivo sencillo, desmontable y que contiene una horquilla, un mango y un cargador. El paciente lo carga y lo sujeta entre los dientes con el alineador en la boca durante 20 min/día con una intensidad de 30 Hz (25g) . Al estar sujeto por el paciente, este puede realizar a la vez cualquier otra actividad rutinaria. El dispositivo proporciona una retroalimentación que indicará el uso del dispositivo el tiempo necesario (Pavlin D et al., 2015).

El paciente solo debe insertar la boquilla en el activador (1), encender el activador (2), colocar el AcceleDent entre los dientes suavemente (3), completar la sesión durante 20 minutos (4), limpiar la boquilla (5) y por último, cargar el activador (6) (Mercado S, 2016).

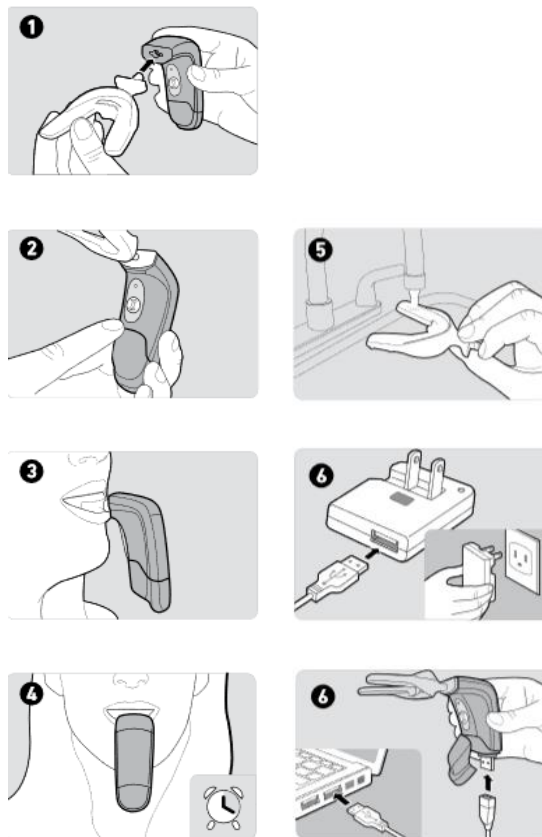


Figura 19. Instrucciones de uso AcceleDent Aura (Tomado de <https://acceleDent.com> - 09.03.2020)

V.4.1.2. Registros

La respuesta clínica de este estudio consistió en la variación en el movimiento dentario que se produciría en los tres grupos en función del uso de Acceledent® y del tiempo de uso de los alineadores. Se tomaron modelos del progreso del tratamiento para poder medir y comparar, en futuras fases de este estudio, la cantidad de movimiento dentario que se producía en cada grupo.

La respuesta bioquímica de este estudio ha sido la determinación en fluido crevicular de los marcadores definidos previamente (RANKL y OPG) por haber más concentración de proteínas en fluido que en saliva. Dicha determinación se ha realizado mediante la concentración en picogramos (pg) respecto a las proteínas totales.

En relación con el método de causalidad, el establecimiento de relaciones causales entre variables, a partir de la formulación de nuestra hipótesis, lo basamos asumiendo que la aleatorización de los pacientes iba a hacer que posibles variables de confusión estuviesen homogéneamente repartidas, y por tanto controladas, en ambos grupos de estudio. Por ello, basamos la relación causal entre la intervención (aplicación de Acceledent®) y el efecto (respuestas clínica y bioquímica anteriormente mencionadas) en la asociación o independencia estadística, junto a la magnitud relativa del efecto que provoca.

V.4.2 MÉTODO

V.4.2.1 Grupos y visitas

Los pacientes fueron tratados con alineadores transparentes (Invisalign®) siguiendo el protocolo establecido al inicio, en el que se les permitió según el grupo asignado, cambiar el alineador cada 7 días y utilizar el mismo durante 22 horas al día salvo para comer o cepillarse los dientes.

Los pacientes del grupo A y B utilizaron Acceleident® 20 min al día (en distintos momentos de su tratamiento ortodóncico, en función del grupo de estudio al que perteneciesen), teniendo en cuenta la siguiente clasificación:

En el grupo A (Acceleident® desde el inicio), los pacientes aplicaron Acceleident® diariamente durante el primer mes y medio y cambiaron los alineadores cada 7 días. Tras este periodo, se cesó el uso del aparato y la pauta de recambio fue a partir de entonces, cada 14 días.

En el grupo B (Acceleident® tras haberse iniciado el tratamiento), los pacientes usaron los alineadores de Invisalign durante el primer mes y medio cambiándolos cada 14 días y a partir de esta etapa se comenzó a utilizar Acceleident® diariamente durante las siguientes seis semanas cambiando los alineadores cada 7 días. Tras este mes y medio se retomó el uso normal de la aparatología.

El grupo C es el grupo control en el que no se aplicó en ningún momento Acceleident® pero sí cambiaron los alineadores cada 7 días y no cada 14, hasta las 12 semanas desde el inicio del tratamiento. Por tanto, la toma de muestras en este grupo fue hasta las 12 semanas cambiando los alineadores cada 7 días y a partir de este momento cada 14, a no ser que se visualizara una desadaptación de los alineadores.

Se tomaron registros en los siguientes momentos (6 en cada grupo):

- Basal -T0: justo antes de activar el movimiento (pacientes grupo A, B y C)
- Cuatro semanas después de haber iniciado el movimiento -T1 (pacientes grupo A, B y C)
- Seis semanas tras haber iniciado el movimiento -T2 (pacientes grupo A, B y C)

- A los 3 meses, 12 semanas -T3 (sólo pacientes grupo B y C. El grupo A se deja periodo de aclaramiento tras el uso de Aceledent)
- A los 4,5 meses, 18 semanas -T4(pacientes grupo A, B y C).



. **Figura 20.** Toma de registros de fluido crevicular en cada uno de los grupos de estudio

V.4.2.2 Registros clínicos medidos

Tras haber recogido las muestras de fluido crevicular, se medía el índice de placa, gingival y sangrado al sondaje tanto del diente test como del diente control.

Índice de placa: Evaluación de la placa en los dientes a estudiar y sus dos dientes adyacentes, siguiendo los criterios del Índice de Silness J y Løe H (1964) en seis localizaciones por diente (Silness J y Loe H, 1964).

Índice gingival: (Mismos dientes que el índice de placa) El estado gingival fue evaluado en función de dos criterios. Primero se determinó la condición gingival en seis localizaciones por diente, siguiendo los criterios del Índice Gingival Modificado de Lobene R (1986). En segundo lugar se evaluó el sangrado al sondaje de forma dicotómica

en seis localizaciones por diente. Este último índice se realizó tras las tomas de FCG para no alterar sus parámetros (Lobenne R et al., 1986).

Se completaron todos los registros ortodóncicos iniciales convencionales, registrando variables dentarias, oclusales y cefalométricas.

Se elaboró una tabla Excel en la que se detallaba el número de paciente, responsable de la toma de muestra, la clínica donde se fueron tomados los registros y fecha de cada una de las muestras detalladas previamente, así como el registro de los índices analizados en cada una de las visitas.

Modelos de estudio:

Los modelos de estudio se realizaron a partir de impresiones de alginato (Proclinic®). La impresión era válida cuando estaba centrada en la cubeta, retenida en boca y se extendía al menos un centímetro por distal del último molar erupcionado. Debía reproducir todas las zonas anatómicas sin tener arrastres, poros o perforaciones.

El vaciado se realizó en escayola blanca Stones Ortoguix® (Protechno) o rosa Velmix® (Kerr) según la clínica en la que se obtenían los registros anteriores. Los modelos se zocalaron y recortaron según el método utilizado en el Máster de Ortodoncia de la UCM.

Todos los modelos se escanearon utilizando el escáner 3Shape TRIOS® para posteriormente, poder realizar las mediciones relacionadas con la cantidad de movimiento ortodóncico (lo que será objeto de otro estudio).



... **Figura 21.** Modelos de estudio. Paciente 35 (T0)

Fotografías:

A cada paciente se le realizó una serie intraoral de fotografías cada vez que se tomaban muestras de fluido crevicular e impresiones para modelos de escayola. Para ello, se utilizó una cámara digital Reflex NIKON D40, dental macro 1:2.8 60 mm NIKON AF-S Micro, flash anular MACRO NISSIN DIGITAL MF-18 y tarjeta de memoria tipo SanDisk Ultra®, un espejo intraoral para las fotografías oclusales y tres separadores de labios de plástico transparente.



Figura 22. Serie fotográfica intraoral. Paciente 37 (T0)

V.4.2.3 Muestras de fluido crevicular

En cada visita y a cada paciente se le realizaron las mediciones oportunas. Se tomó una muestra de fluido crevicular en un diente que se moviese hacia vestibular o hacia lingual según el ClinCheck® (herramienta de análisis digital de los movimientos dentarios), tomando siempre el lado de presión, es decir, el lado hacia dónde se movía el diente, como referencia. La selección de este diente solía ser un incisivo inferior o superior, según si el movimiento era mayor en las etapas iniciales del ClinCheck®, ya que se descartaban aquellos dientes que en la semana 18 no tuvieran apenas movimiento. Las muestras se tomaron aislando con un rollo de algodón, secando ligeramente el diente, limpiando los depósitos de placa supragingival e introduciendo una punta de papel absorbente de 25 micras de diámetro (Roeko®) utilizadas en endodoncia, 1 mm subgingival durante 30 segundos en el surco gingival, si el papel se manchaba de sangre o detritos, la muestra era desechada al estar contaminada.

En todos los tubos de Eppendorf donde se almacenaron las muestras, se indicó el número de paciente, la fecha, el diente (vestibular/lingual) y la visita en que fue tomada.

De igual forma, las muestras se almacenaban en un congelador (-20° C) hasta ser trasladada a laboratorio de análisis donde se registraba, clasificaba y almacenaba en un congelador específico con una temperatura de -80°C.

Todas las muestras (n=210) se extrajeron con una dilución de 200 µl que contenía Buffer fosfato (KH₂PO₄ / K₂HPO₄) Ph=7), fluoruro de fenilmetilsulfonilo (PMSF) e inhibidores de proteasas. Después de incubarlas 2 horas a temperatura ambiente, se centrifugaron 10 min a 10000 rpm y analizaron mediante Kits de ELISA para RANKL soluble de Mybiosource® con sensibilidad de 0,28 ng/l y para OPG de Elabscience® con una sensibilidad de 0,10 ng/ml.

Las muestras se analizaron por duplicado (n=420) según las instrucciones de cada Kit y los resultados obtenidos mediante el programa Prisma 8® se expresaron como concentración total en µg/ml para RANKL y OPG.

Todas ellas fueron destruidas una vez analizadas y terminado el estudio. Las muestras biológicas recogidas en este estudio fueron tratadas según lo establecido en la Ley 14/2007 de Investigación Biomédica (BOE núm.159 del 4 de julio de 2007). El posible sobrante de muestra no utilizado en el estudio, se eliminó y destruyó conforme a dicha normativa (Art. 61).

Técnica ELISA

La técnica ELISA (Enzyme Linked Inmuno Sorbent Assay) es una técnica inmunoquímica que cuantifica una sustancia mediante la unión de antígenos y anticuerpos. Detecta un antígeno (Ag) o anticuerpo (Ac) inmovilizado sobre una fase sólida de un soporte inmunoabsorbente y que reacciona con otros anticuerpos o

inmunógenos marcados con una enzima. De la unión con la enzima, se produce un producto coloreado que se puede medir mediante espectrofotometría.

Existen tres tipos de ELISAS; directo, indirecto o tipo sándwich. En esta investigación se ha utilizado el tercero, en el que en la placa hay un anticuerpo fijado frente al antígeno que hay que testear. La unión de ambos y al añadir el segundo anticuerpo marcado con la enzima, mostrará el resultado de la reacción. Al añadir el segundo anticuerpo, da mayor sensibilidad y especificidad a los resultados. Dependiendo del Kit, se requieren distintos momentos de incubación y aclarado, para eliminar aquellas moléculas no fijadas, y así al final obtener un revelado de la reacción enzimática tras haber añadido y dejado reaccionar el sustrato en solución. La densidad óptica se lee mediante el espectrofotómetro (Segura J, 1996).

Análisis bioquímico para kit de ELISA RANKL soluble humano libre (RANKLs):

Se analizaron 210 muestras de fluido crevicular obtenidas de los 45 pacientes. Dichas muestras fueron diluidas y repartidas en 420 pocillos, 210 para el análisis mediante el Kit de ELISA de RANKLs y 210 para el de OPG.

Este kit (ref: MBS167766), contaba con una sensibilidad de 0,28 ng/L, un rango de detección de 0,5 ng/L-300 ng/L y 96 pocillos para el análisis, eliminando 10 para la curva patrón duplicada. De esta forma, en cada kit se contaba con poder analizar 86 de las 210 muestras que se requerían.

La técnica ELISA (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay) de este Kit tenía el anticuerpo de RANKLs en cada uno de los pocillos. Se añadía la muestra con el RANKLs

presente en cada una de ellas y este se unía a los anticuerpos de cada pocillo. Después de una serie de procesos de laboratorio e incubación de las muestras, pasaban por un protocolo de lavado. El color de la muestra varió de ser azul con el biotinilado a amarillo y tras la solución stop, se reflejaron los datos de absorbancia extrapolados a la recta patrón para calcular la concentración de RANKLs o antígeno en cada una de las muestras.

Análisis bioquímico para kit de ELISA OPG humano:

Este kit (ref:E-EL-H1341), contaba con una sensibilidad de 0,10 ng/L, un rango de la curva estándar de 0,16 ng/L-0-10 ng/L y 96 pocillos para el análisis, eliminando 10 para la curva patrón duplicada. De esta forma, en cada kit se contaba con poder analizar 86 de las 210 muestras que se requerían.

Este Kit tenía el anticuerpo de OPG en cada uno de los pocillos. Se añadía la muestra con OPG presente en cada una de ellas y este se unía a los anticuerpos de cada pocillo. Después de una serie de procesos de laboratorio e incubación de las muestras, pasaban por un protocolo de lavado. El color de la muestra varió de ser azul con el biotinilado a amarillo y tras la solución stop, se reflejaron los datos de absorbancia extrapolados a la recta patrón para calcular la concentración de OPG o antígeno en cada una de las muestras.

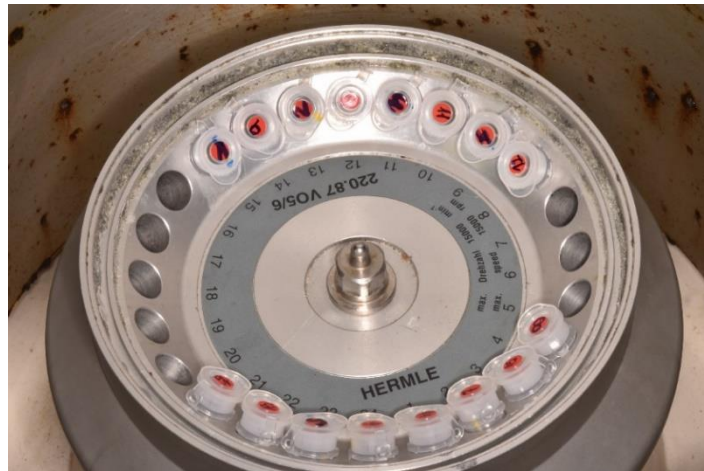


Figura 23. Centrifugadora (Z 326 K)



Figura 24. Eppendorf con muestras de fluido crevicular diluidas y centrifugadas

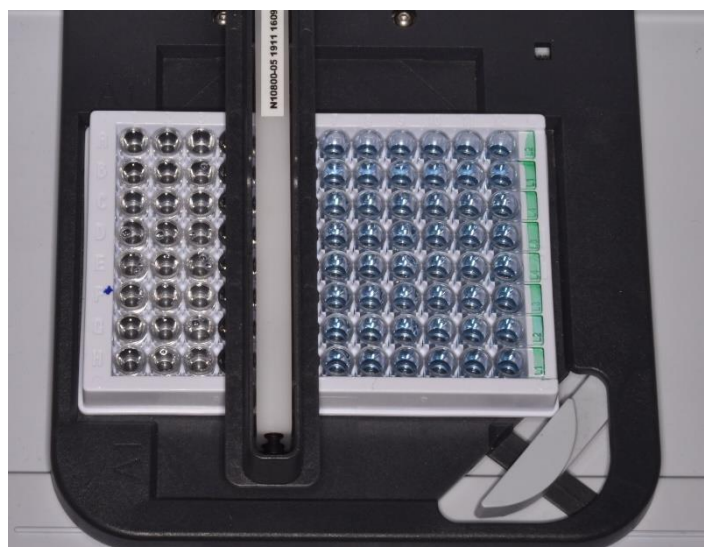


Figura 25. Proceso de lavado durante el análisis ELISA



Figura 26. Adición de biotinilado a las muestras de RANKL y OPG

V.5 ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Se calcularon las variables demográficas para cada grupo de pacientes (edad y sexo) y se compararon para determinar la ausencia de diferencias (test de ANOVA y test de Chi-cuadrado).

Para las concentraciones de RANKL y OPG, se calculó la estadística descriptiva mediante medias y desviación estándar, una vez comprobada la distribución normal de los datos, y se realizó la comparación intra e intergrupo con el modelo ANOVA para muestras independientes y ANOVA mixto de medidas repetidas, considerando el tiempo y el grupo como factores, y realizando los contrastes a posteriori de Bonferroni. Todos los cálculos se realizaron con el software estadístico SPSS versión 22. Se estableció el nivel de significación en $p \leq 0,05$.

VI. RESULTADOS

VI.1. CARACTERÍSTICA DEMOGRÁFICAS DE LA MUESTRA

VI.2. ESTADÍSTICA INTRAGRUPO

VI.2.1 EVOLUCIÓN DE RANKL EN EL DIENTE EXPERIMENTAL EN CADA UNO DE LOS TRES GRUPOS

VI.2.2 EVOLUCIÓN DE OPG EN EL DIENTE EXPERIMENTAL EN CADA UNO DE LOS TRES GRUPOS

VI.3. ESTADÍSTICA INTERGRUPO

VI.3.1 DIFERENCIA DE MEDIAS INTERGRUPO PARA LA CONCENTRACIÓN DE RANKL

VI.3.2 DIFERENCIA DE MEDIAS INTERGRUPO PARA LA CONCENTRACIÓN DE OPG

VI.3.3 DIFERENCIAS INTERGRUPO ENTRE LOS CAMBIOS PRODUCIDOS EN LOS DISTINTOS MOMENTOS DE TOMA DE MUESTRA

VI.3.3.1 Cambios en la concentración de RANKL intergrupo entre los diferentes momentos de toma de muestra de fluido crevicular en el diente experimental

VI.3.3.2 Cambios en la concentración de OPG intergrupo entre los diferentes momentos de toma de muestra de fluido crevicular en el diente experimental

VI.4 ÍNDICE DE PLACA, ÍNDICE GINGIVAL Y SANGRADO AL SONDAJE

VI.4.1 ÍNDICE DE PLACA, ÍNDICE GINGIVAL Y SANGRADO AL SONDAJE

INTRAGRUPPO

VI.4.2 ÍNDICE DE PLACA, ÍNDICE GINGIVAL Y SANGRADO AL SONDAJE

INTERGRUPPO

VI.1 CARACTERÍSTICAS DEMOGRÁFICAS DE LA MUESTRA

La tabla 1 presenta la descripción de las características de la muestra de pacientes incluidos en este estudio.

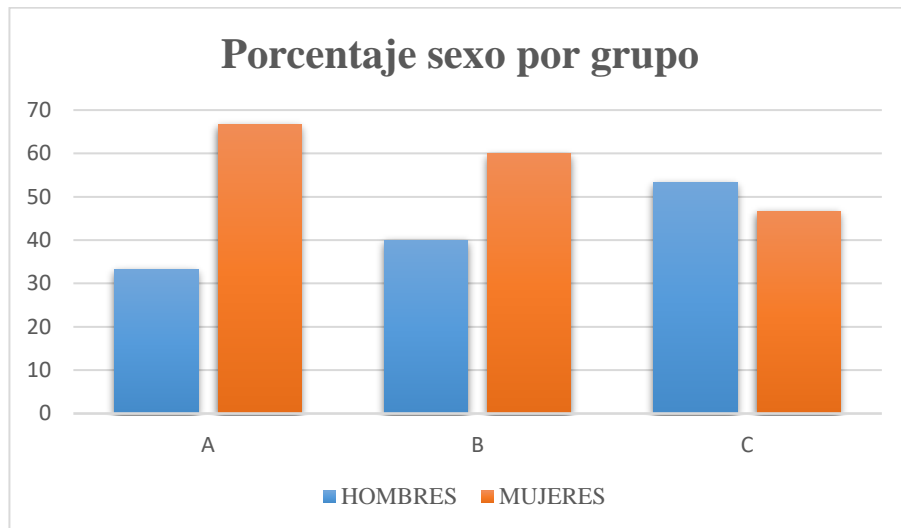
GRUPO	N	Sexo		Edad		
		Hombre	Mujer	Media	DE	Rango
A	15	5	10	28,8	9,55	21-54
B	15	6	9	29,93	6,9	22-43
C	15	8	7	33,73	8,54	21-48
p		0,529		0,254		

Tabla 1. Distribución de la muestra por sexo y edad. N=número de sujetos. p=significación estadística

Como se puede observar, de los 45 pacientes, el 57,7 % fueron mujeres respecto al 42,2% de hombres mostrando equidad en la distribución por sexos ($p=0,529$), pudiendo así unificar los datos para futuros análisis.

No se han sido encontradas diferencias significativas en los tres grupos estudiados respecto a la edad, considerando homogénea la muestra ($p=0,254$). El rango de edad en el grupo A fue de 21-54 años, en el B de 22-43 y en el C de 21-48, con una desviación estándar de 9,55, 6,9 y 8,54 respectivamente.

La gráfica 1 representa el porcentaje de distribución por sexos en cada uno de los grupos estudiados.



Gráfica 1. Porcentaje de sexos en grupo A, B y C

En el grupo A, el porcentaje de hombres fue del 33,3% frente al 66,7% de mujeres. En el grupo B fue del 40% respecto al 60% de mujeres y, por último, en el grupo C, el 53,3% de la muestra fueron hombres frente al 46,7% de mujeres.

VI.2 ESTADÍSTICA INTRAGRUPO

VI.2.1 EVOLUCIÓN DE RANKL EN EL DIENTE EXPERIMENTAL EN CADA UNO DE LOS TRES GRUPOS

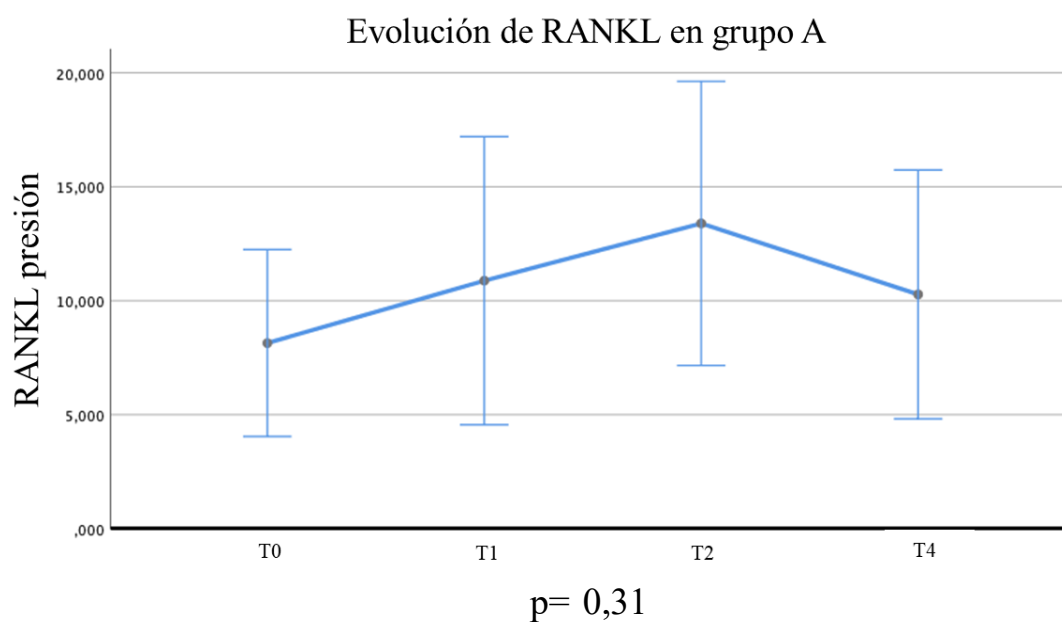
La tabla 2 muestra los datos de RANKL obtenidos en el grupo A en diferentes momentos de toma de registros en el diente experimental.

GRUPO A	N	Media	DE	Mínimo	Máximo	P
RANKL T0	15	8,14	7,40	0,682	20,86	0,31
RANKL T1	15	10,88	11,42	0,264	35,81	
RANKL T2	15	13,39	11,25	0,214	31,98	
RANKL T4	15	10,28	9,86	0,157	33,98	

Tabla 2. Medias de las medidas de RANKL, medido en picogramos (pg), de T0-T4 del grupo A sin toma de registro a las 12 semanas como en el resto de grupos (T3). DE= desviación estándar; valores mínimos y máximos; p= significación estadística (ANOVA medidas repetidas)

No se obtuvieron resultados estadísticamente significativos en este grupo de pacientes en cuanto al aumento de RANKL durante el tratamiento con Invisalign® y Acceleident® utilizado las primeras 6 semanas de tratamiento de ortodoncia.

En la gráfica 2, se observa la tendencia de un aumento de RANKL durante las 6 primeras semanas con uso de vibración con cambio semanal de alineadores, bajando de forma considerable tras el uso del mismo.



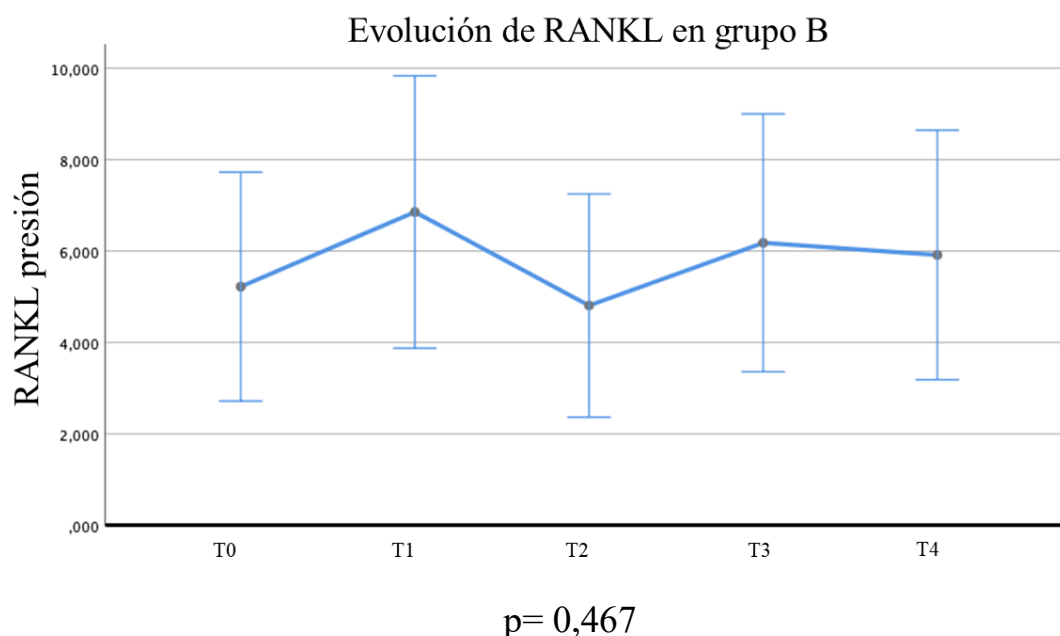
Gráfica 2. Evolución de las concentraciones en picogramos (pg) de RANKL en el grupo A

En la tabla 3, se detallan los datos de RANKL obtenidos en el grupo B en los distintos momentos en los que se recogieron las muestras de fluido crevicular en el diente experimental.

GRUPO B	N	Media	DE	Mínimo	Máximo	p
RANKL T0	15	5,22	4,52	0,39	11,76	0,467
RANKL T1	15	6,86	5,38	0,41	15,09	
RANKL T2	15	4,81	4,41	0,31	12,44	
RANKL T3	15	6,18	5,09	0,24	14,02	
RANKL T4	15	5,92	4,93	0,39	12,30	

Tabla 3. Medias de las medidas de RANKL, medido en picogramos (pg), de T0-T4 del grupo C. DE= desviación estándar; valores mínimos y máximos; p= significación estadística (ANOVA medidas repetidas)

Se puede observar que no hubo diferencias significativas en los resultados obtenidos para RANKL en el grupo B.



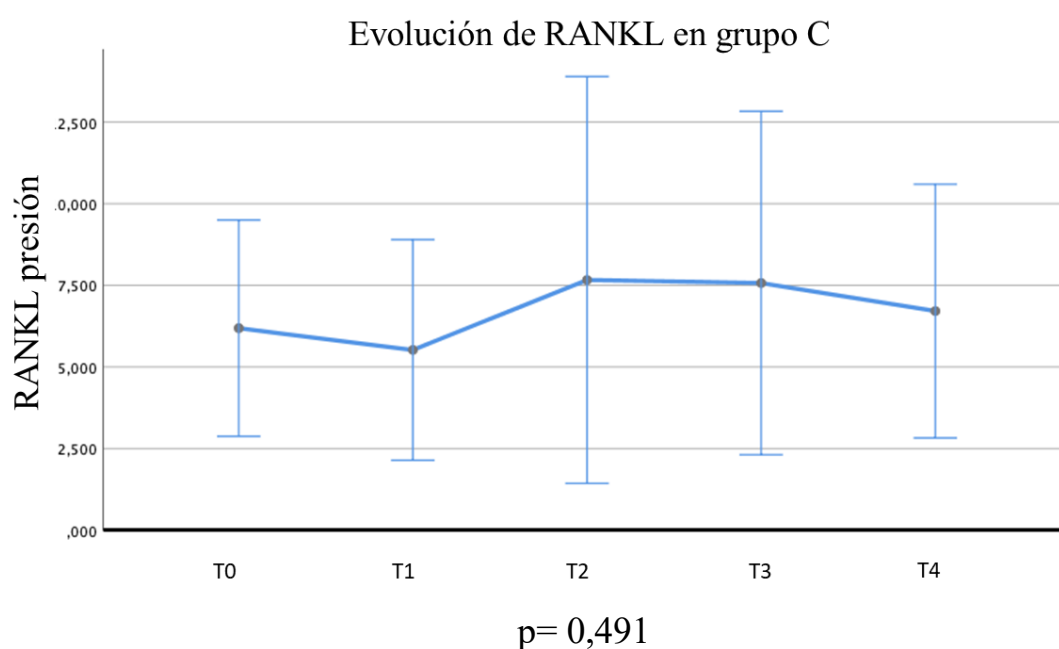
Gráfica 3. Aumento de RANKL, medido en picogramos (pg) a las 4 semanas de inicio del tratamiento y bajada tras el mismo. Aumentó de nuevo tras uso de Acceleident® manteniéndose, aunque sin resultados estadísticamente significativos

Por último, se muestran las tablas y gráficas que corresponden a la evolución de las concentraciones (pg) de RANKL del grupo C, en la toma de registro de fluido crevicular en los diferentes momentos analizados, T0-T4, sin uso de vibración, cambiando los alineadores de manera semanal las primeras 12 semanas del tratamiento hasta T3, cambiándolos cada 14 días de T3-T4.

La tabla 4, muestra los datos de RANKL obtenidos en el grupo C en diferentes momentos de toma de registros en la zona de presión del diente test.

GRUPO C	N	Media	DE	Mínimo	Máximo	p
RANKL T0	15	6,19	5,98	0,43	17,54	0,491
RANKL T1	15	5,52	6,10	0,49	19,37	
RANKL T2	15	7,66	11,25	0,07	39,61	
RANKL T3	15	7,57	9,50	0,37	29,19	
RANKL T4	15	6,71	7,02	0,31	19,89	

Tabla 4. Medias de las medidas de RANKL, medido en picogramos (pg), de T0-T4 en el grupo C. DE= desviación estándar; valores mínimos y máximos; p= significación estadística (ANOVA medidas repetidas)



Gráfica 4. Aumento de RANKL, medido en picogramos (pg) a partir de las 4 semanas y disminución de su concentración a partir de T3, con cambio de alineador cada 14 días en vez de cada 7

No se obtuvieron resultados estadísticamente significativos en este grupo de pacientes en cuanto al aumento de RANKL durante el tratamiento con Invisalign® durante todo el periodo de duración del estudio.

Como resumen, podemos decir que la evolución de los niveles de RANKL no presentó diferencias significativas intra grupo para ninguno de los tres grupos estudiados.

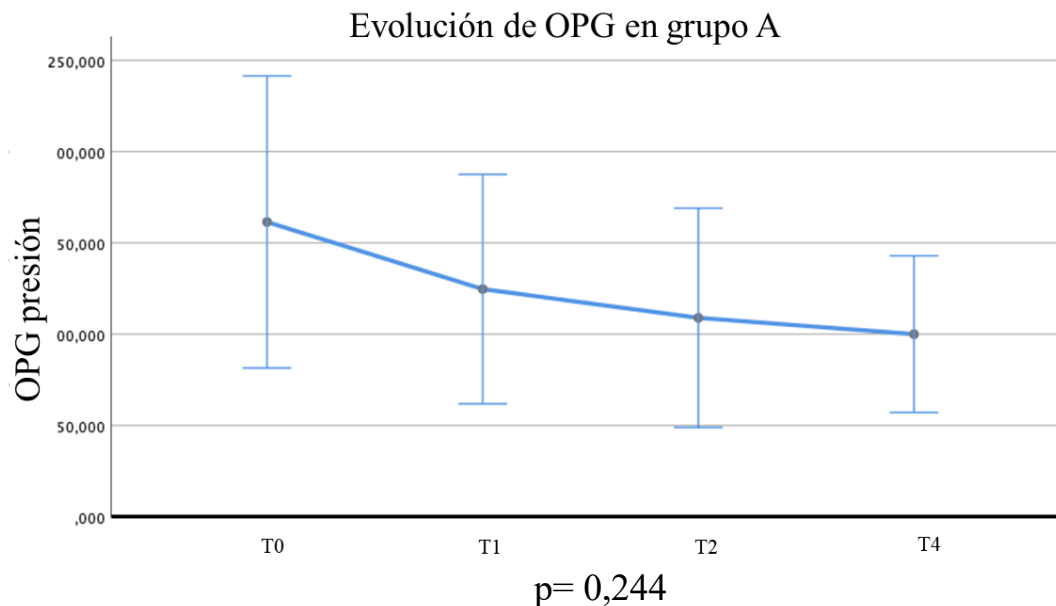
VI.2.2 EVOLUCIÓN DE OPG EN EL DIENTE EXPERIMENTAL EN CADA UNO DE LOS TRES GRUPOS

La tabla 5 muestra los datos obtenidos del lado de presión del diente control en el grupo A para OPG.

GRUPO A	N	Media	DE	Mínimo	Máximo	P
OPG T0	15	161,50	144,45	0,01	443,71	0,244
OPG T1	15	124,71	113,40	0,02	362,47	
OPG T2	15	108,97	108,41	0,06	388,09	
OPG T4	15	100,04	77,49	3,05	259,57	

Tabla 5. Medias de las medidas de OPG, medido en picogramos (pg), de T0-T4 del grupo A. DE= desviación estándar; valores mínimos y máximos; p= significación estadística (ANOVA medidas repetidas)

El gráfico 5, muestra una bajada progresiva de la concentración (pg) de OPG durante el tratamiento con Invisalign® y Acceleident® de manera no significativa.



Gráfica 5. Evolución de las concentraciones en picogramos (pg) de OPG en el grupo A

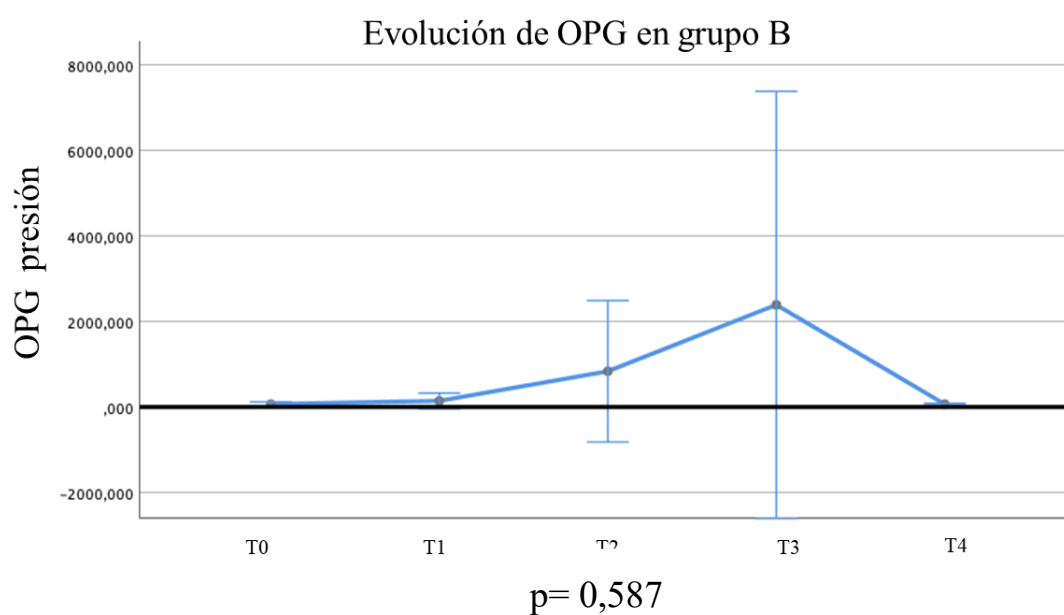
Se puede observar que no existieron diferencias significativas en los distintos momentos de toma de muestra de fluido crevicular para OPG en el grupo A.

En la tabla 6, se detallan las distintas medidas obtenidas de OPG en el grupo B del diente experimental en cada uno de los pacientes.

GRUPO B	N	Media	DE	Mínimo	Máximo	P
OPG T0	15	66,89	92,34	0,22	367,92	0,587
OPG T1	15	142,32	328,70	2,68	1315,28	
OPG T2	15	834,58	2985,78	7,19	11625,46	
OPG T3	15	2389,01	9014,05	3,69	34972,30	
OPG T4	15	64,77	39,94	7,51	155,28	

Tabla 6. Medias de las medidas de OPG, medido en picogramos (pg), de T0-T4 del grupo B. DE= desviación estándar; valores mínimos y máximos; p= significación estadística (ANOVA medidas repetidas)

La gráfica 6 muestra como tras el uso de vibración, hay un aumento de OPG que disminuye tras dejar de utilizar el dispositivo, aunque de forma no significativa.

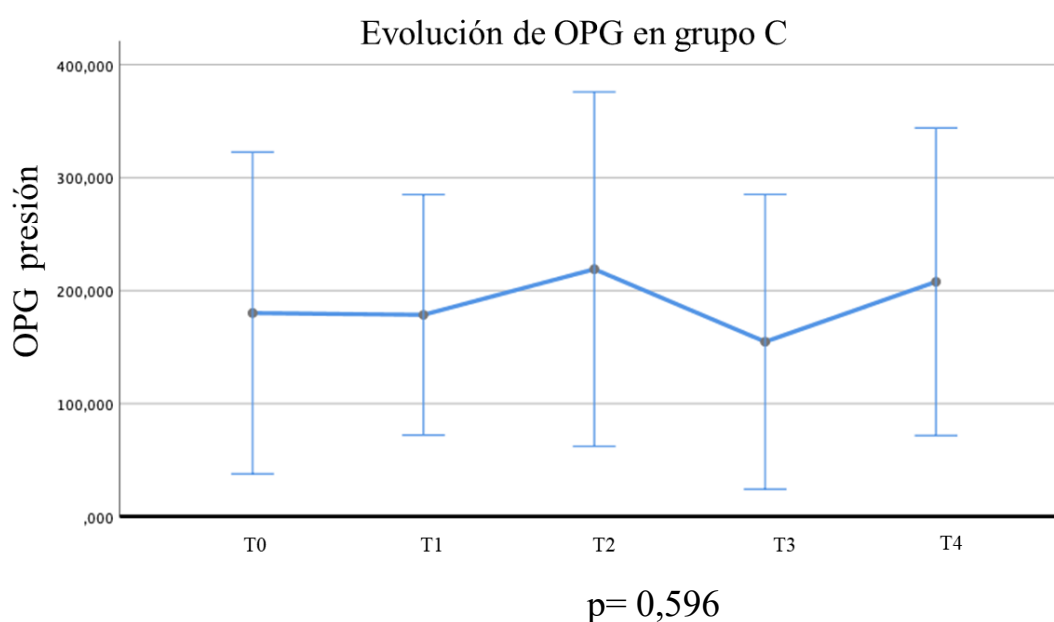


Gráfica 6. Aumento de OPG a partir de las 4 semanas y bajada brusca tras uso de vibración

En la tabla 7, se observa las medidas de OPG en el grupo C en el diente experimental.

GRUPO C	N	Media	DE	Mínimo	Máximo	P
OPG T0	15	180,20	257,14	6,91	942,70	0,596
OPG T1	15	178,58	192,22	0,66	550,43	
OPG T2	15	219,03	283,17	1,60	978,72	
OPG T3	15	154,73	235,55	0,63	742,92	
OPG T4	15	207,85	245,74	1,09	828,65	

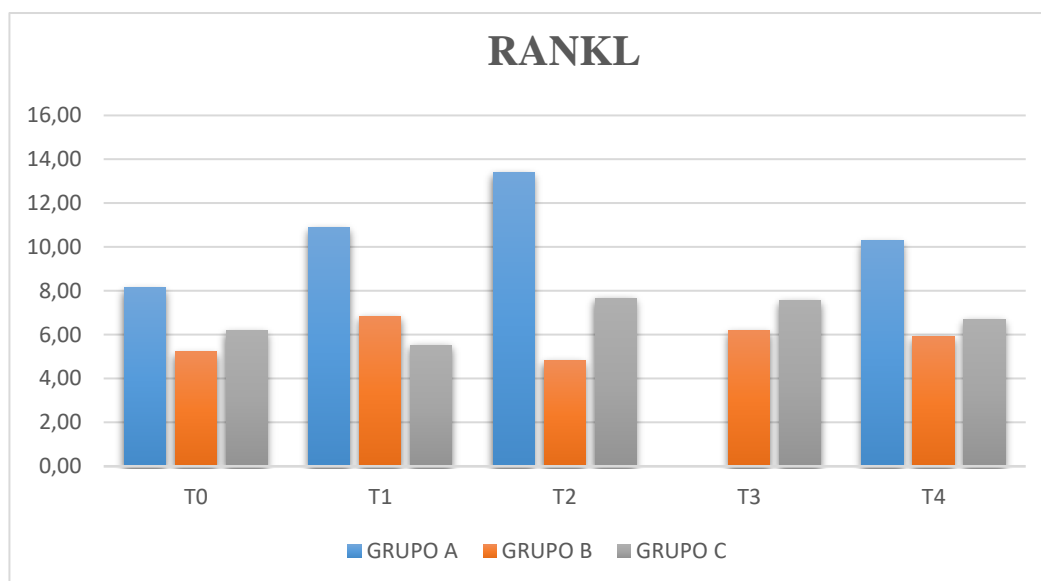
Tabla 7. Medias de las medidas de OPG, medido en picogramos (pg), de T0-T4 del grupo C. DE= desviación estándar; valores mínimos y máximos; p= significación estadística (ANOVA medidas repetidas)



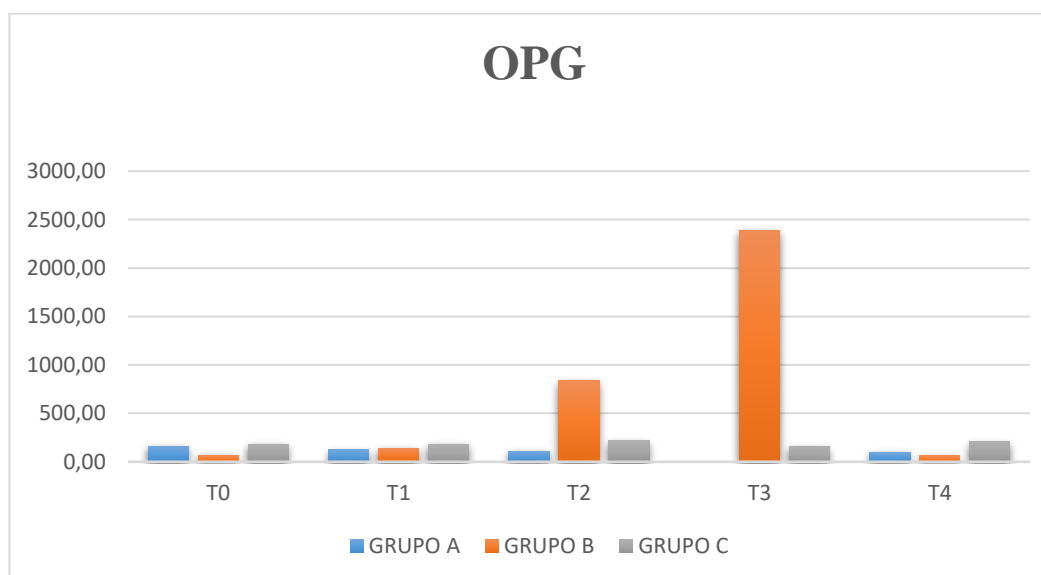
Gráfica 7. OPG aumenta a partir de las primeras 4 semanas y disminuye tras las 6 semanas de iniciar el tratamiento, aumentando de nuevo con el cambio de alineadores cada 14 días

Como resumen, podemos decir que la evolución de los niveles de OPG no presentó diferencias significativas intra grupo para ninguno de los tres grupos estudiados.

Seguidamente se refleja en las gráficas los cambios en la concentración de RANKL y OPG de forma esquemática a partir de las medias, medidas en picogramos (pg) recogidas del análisis de todas las muestras.



Gráfica 8. Evolución de RANKL del diente experimental en los tres grupos estudiados en diferentes momentos de toma de fluido crevicular. T0; basal, T1; a las 4 semanas de tratamiento, T2; a las 6 semanas, T3; a las 12 semanas (sin grupo A), T4; a las 18 semanas tras inicio del tratamiento de ortodoncia



Gráfica 9. Evolución de OPG en lado de presión en los tres grupos estudiados en diferentes momentos de toma de fluido crevicular. T0; basal, T1; a las 4 semanas de tratamiento, T2; a las 6 semanas, T3; a las 12 semanas (sin grupo A), T4; a las 18 semanas tras inicio del tratamiento de ortodoncia

VI.3 ESTADÍSTICA INTERGRUPO

VI.3.1 DIFERENCIA DE MEDIAS INTERGRUPO PARA LA CONCENTRACIÓN DE RANKL

A continuación, se reflejan los datos obtenidos del análisis de fluido crevicular entre los diferentes grupos seleccionados mediante ANOVA para muestras independientes.

En primer lugar, se puede observar la tabla para RANKL en el diente experimental.

		Media	DE	Mínimo	Máximo	P
RANKL	T0	A	8,14	7,40	0,68	20,86
		B	5,22	4,52	0,39	11,76
		C	6,19	5,98	0,43	17,54
	T1	A	10,88	11,42	0,26	35,81
		B	6,86	5,38	0,41	15,09
		C	5,52	6,10	0,49	19,37
	T2	A	13,39	11,25	0,21	31,98
		B	4,81	4,41	0,31	12,44
		C	7,66	11,25	0,07	39,61
	T3	A	N/A	N/A	N/A	N/A
		B	6,18	5,09	0,24	14,02
		C	7,57	9,50	0,37	29,19
	T4	A	10,28	9,86	0,16	33,98
		B	5,92	4,93	0,39	12,30
		C	6,71	7,02	0,31	19,89

Tabla 8. Media de la concentración de RANKL, medido en picogramos (pg) en el lado de presión en los registros obtenidos de T0-T4; DE= desviación estándar, valores mínimos y máximos de las concentraciones obtenidas; p=significación estadística intergrupos

En las gráficas, se observa como RANKL aumenta de forma no estadísticamente significativa por el uso de vibración en el grupo A y B, mientras que el grupo C aumenta discretamente por el cambio de alineador semanal y no cada 14 días, disminuyendo cuando se aumenta el número de días que mantienen el mismo alineador en boca.



Gráfica 10. Evolución de la concentración de RANKL en los tres grupos estudiados, en los diferentes momentos analizados. T0; basal, T1; a las 4 semanas de tratamiento, T2; a las 6 semanas, T3; a las 12 semanas (sin grupo A), T4; a las 18 semanas tras inicio del tratamiento de ortodoncia

VI.3.2 DIFERENCIA DE MEDIAS INTERGRUPO PARA LA CONCENTRACIÓN DE OPG

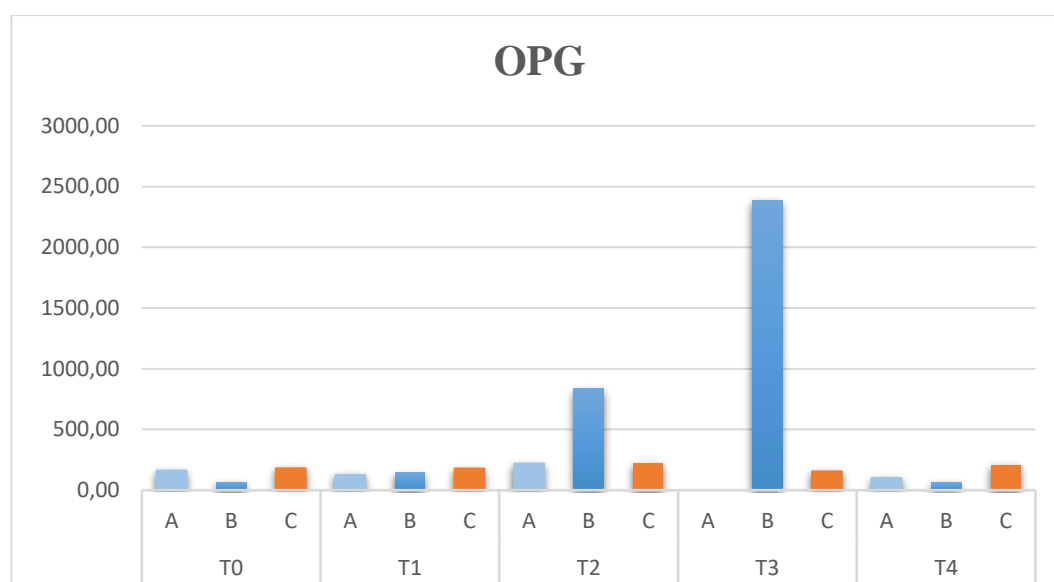
A continuación, se reflejan los datos obtenidos del análisis de fluido crevicular entre los diferentes grupos seleccionados mediante ANOVA para muestras independientes.

Se puede observar en la siguiente tabla OPG en el diente experimental.

		Media	DE	Mínimo	Máximo	P
OPG	T0	A	161,50	144,45	0,01	443,71
		B	66,89	92,34	0,22	367,92
		C	180,20	257,14	6,91	942,70
	T1	A	124,71	113,40	0,02	362,47
		B	142,32	328,70	2,68	1315,28
		C	178,58	192,22	0,66	550,43
	T2	A	219,03	283,17	1,60	388,09
		B	834,58	2985,78	7,19	11625,46
		C	219,03	283,17	1,60	978,72
	T3	A	N/A	N/A	N/A	N/A
		B	2389,01	9014,05	3,69	34972,3
		C	154,73	235,55	0,63	742,92
	T4	A	100,04	77,49	3,05	259,57
		B	64,77	39,94	7,51	155,28
		C	207,85	245,74	1,09	828,65

Tabla 9. Media de la concentración de OPG, medido en picogramos (pg) en el lado de presión en los registros obtenidos de T0-T4; DE= desviación estándar, valores mínimos y máximos de las concentraciones obtenidas; p=significación estadística intergrupos

En la gráfica donde se muestra OPG, lo más significativo es el aumento de concentración tras el uso de Acceleident® en el grupo B, disminuyendo drásticamente tras el uso del mismo.



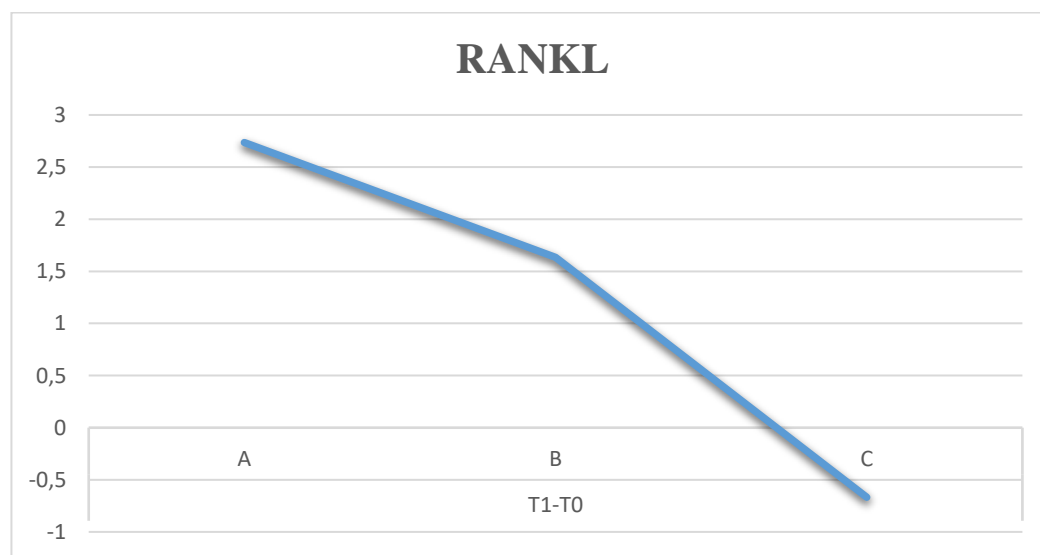
Gráfica 11. Evolución de la concentración de OPG en los tres grupos estudiados, en los diferentes momentos analizados. T0; basal, T1; a las 4 semanas de tratamiento, T2; a las 6 semanas, T3; a las 12 semanas (sin grupo A), T4; a las 18 semanas tras inicio del tratamiento de ortodoncia

VI.3.3 DIFERENCIAS INTERGRUPO ENTRE LOS CAMBIOS PRODUCIDOS EN LOS DISTINTOS MOMENTOS DE TOMA DE MUESTRA

VI.3.3.1 Cambios en la concentración de RANKL intergrupo entre los diferentes momentos de toma de muestra de fluido crevicular en el diente experimental.

Cambios T1-T0 (0-4 semanas)

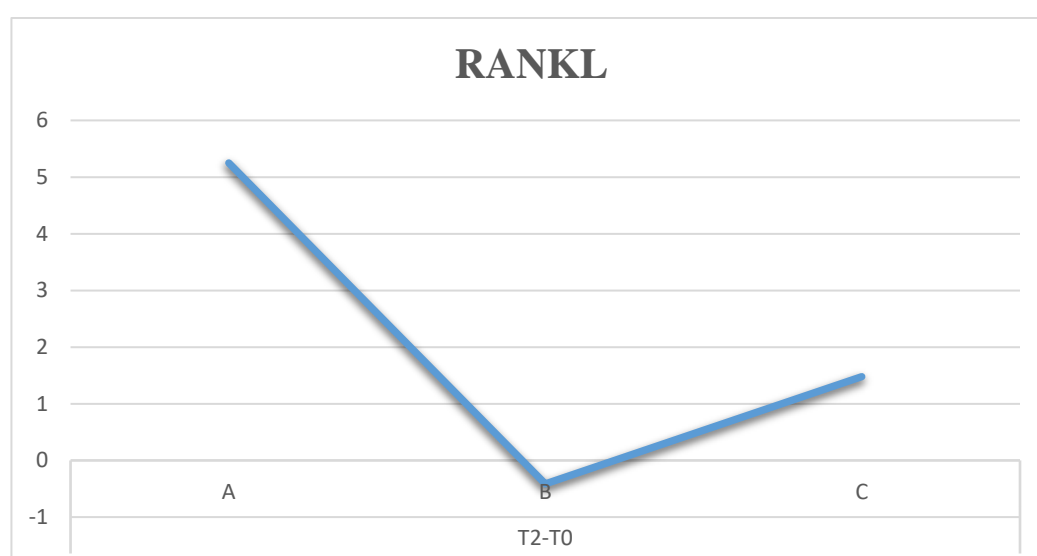
En la gráfica 12, el grupo A fue el que más aumentó en la concentración de RANKL utilizando vibración y con cambio de alineadores de forma semanal. Sin embargo, en esta fase en la que entre el grupo B y C solo había diferencia en el día de cambio de alineador (B- cada 14 días y C- cada 7), se observó como hubo una respuesta de RANKL más alta con un cambio de alineador cada 14 días. Sin embargo, la comparación de los cambios entre los tres grupos no fue significativa ($p=0,342$).



Gráfica 12. Expresión de RANKL en el lado de presión desde el inicio del tratamiento hasta las 4 semanas después de iniciar el mismo en los grupos estudiados, medido en picogramos (pg)

Cambios T2-T0 (0-6 semanas)

En la siguiente gráfica (gráfica 13) se muestra la evolución de RANKL a las 6 semanas de iniciar el tratamiento de ortodoncia. Se puede afirmar que en el grupo B, con cambio de alineador cada 14 días, RANKL fue menor que en el C, por lo que mientras que en las primeras 4 semanas observábamos que debíamos cambiar los alineadores cada 14 días, pues el grupo B es el que reportaba mayor concentración de citoquina respecto al C, a partir de entonces mejoraría el turnover óseo cambiando el alineador cada 7 días. Sin embargo, la comparación de los cambios entre los tres grupos no fue significativa ($p=0,282$).

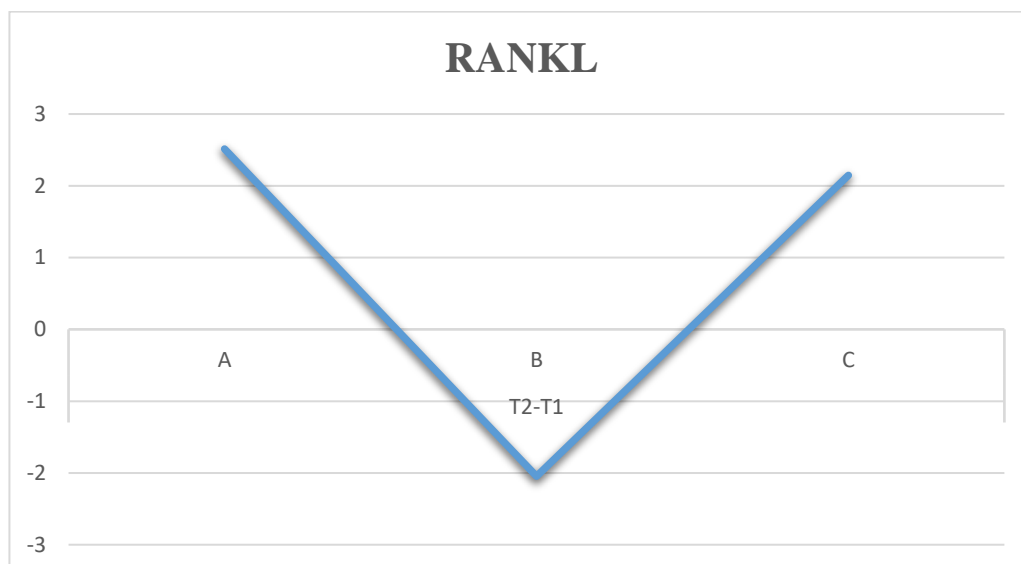


Gráfica 13. Expresión de RANKL, medido en picogramos (pg), en el diente experimental desde el inicio del tratamiento hasta las 6 semanas después de iniciar el mismo. Entre los grupos es el A el que mayor concentración de RANKL tiene

Cambios T2-T1 (4-6 semanas)

En la gráfica 14, se muestra la evolución de RANKL de la semana 4-6 tras iniciar el tratamiento de ortodoncia. Al igual que la anterior, se observa una tendencia de aumento de RANKL, con el cambio de alineador cada 7 días una vez se instaura el

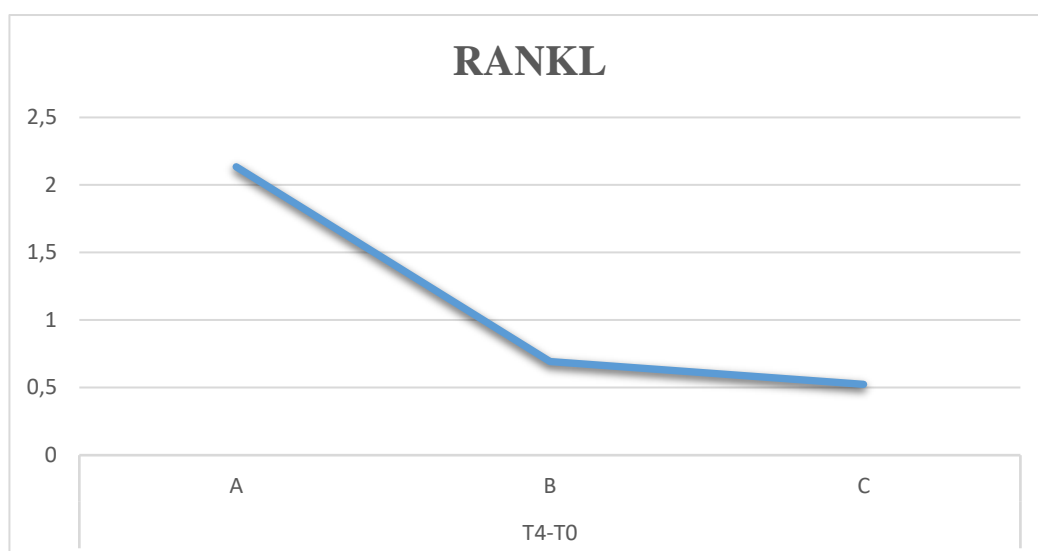
movimiento, a partir de la cuarta semana. Sin embargo, la comparación de los cambios entre los tres grupos no fue significativa ($p=0,451$).



Gráfica 14. Expresión de RANKL, medido en picogramos (pg), desde las 4 semanas de haber iniciado el tratamiento de ortodoncia a las 6 semanas del mismo (T1-T2). Entre los grupos es el A el que mayor concentración de RANKL tiene siguiendo utilizando Accelendent® con cambio de alineador cada 7 días

Cambios T4-T0 (0-18 semanas)

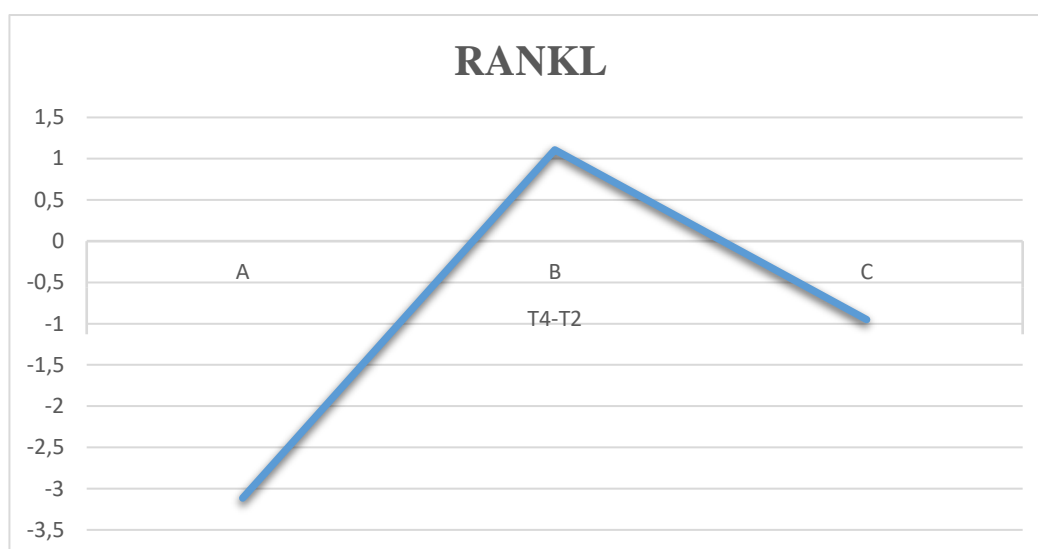
En la gráfica 15, se observa como el uso de Accelendent® desde el inicio, favoreció el aumento de concentración de RANKL, respecto al B que su uso es postergado y siendo este mayor que el C, en el que no se utilizó vibración durante la investigación. Sin embargo, la comparación de los cambios entre los tres grupos no fue significativa ($p=0,851$).



Gráfica 15. Expresión de RANKL, medido en picogramos (pg), en el diente experimental desde el inicio del tratamiento hasta las 18 semanas. La concentración de RANKL sigue siendo mayor en el grupo A respecto a B y C, una vez dejado de utilizar en dos de los tres grupos la vibración y cambiando en los tres, los alineadores cada 14 días desde la semana 12 de tratamiento

Cambios T2-T4 (6-18 semanas)

En la gráfica 16, se observa como a partir de las 6 semanas en las que el grupo A cambió los alineadores cada 14 días, la concentración de RANKL (pg) fue menor que la del grupo C en el que aún se cambiaban los alineadores durante las segundas 6 semanas de tratamiento de forma semanal y aún menor que la del B en el que durante las 6 semanas se añadió Acceleident®, siendo el grupo en el que en esta fase, se aumentó la concentración de RANKL(pg). Sin embargo, la comparación de los cambios entre los tres grupos no fue significativa ($p=0,356$).

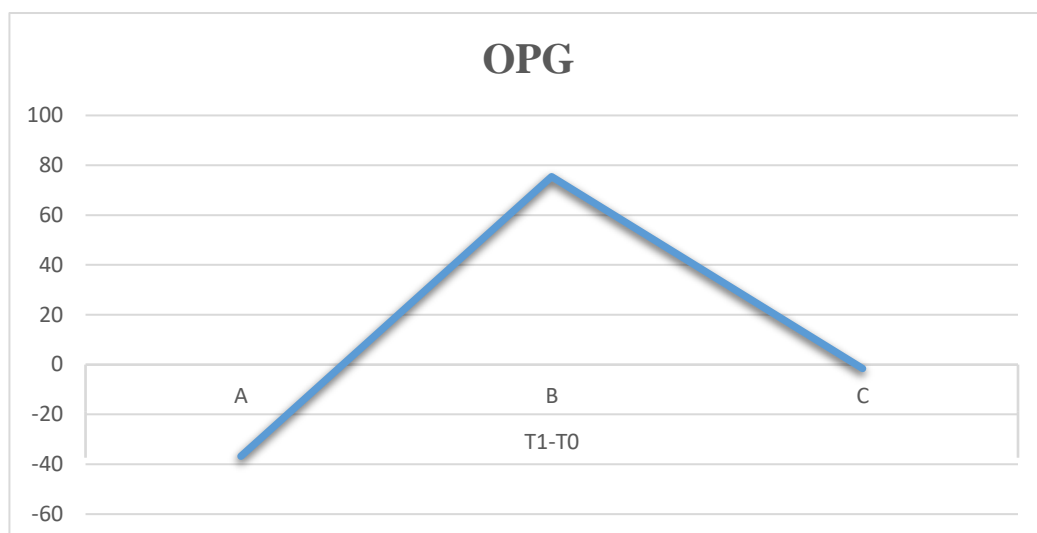


Gráfica 16. Expresión de RANKL, medido en picogramos (pg), en el lado de presión desde las 6 hasta las 18 semanas de tratamiento de ortodoncia. La concentración de RANKL es mayor en el grupo B.

VI.3.3.2 Concentración de OPG intergrupo entre los diferentes momentos de toma de muestra de fluido crevicular en el diente experimental.

Cambios T1-T0 (0-4 semanas)

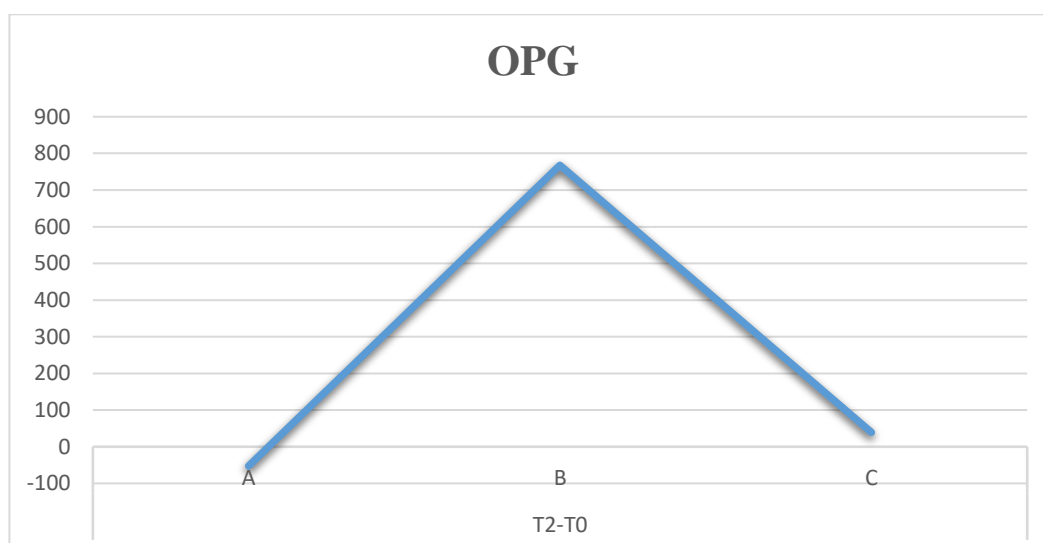
En la gráfica 17, se observa al contrario que en la concentración de RANKL como en el grupo A, la concentración OPG fue la menor de los tres grupos. Existió un repunte de OPG en el grupo B respecto al C, en el que la formación ósea podría ser mejor con cambio de alineador cada 14 días (grupo B) en vez de cada 7 (grupo C). Sin embargo, la comparación de los cambios entre los tres grupos no fue significativa ($p=0,433$).



Gráfica 17. Expresión de OPG, medido en picogramos (pg), en el lado de presión las primeras 4 semanas del tratamiento de ortodoncia

Cambios T2-T0 (0-6 semanas)

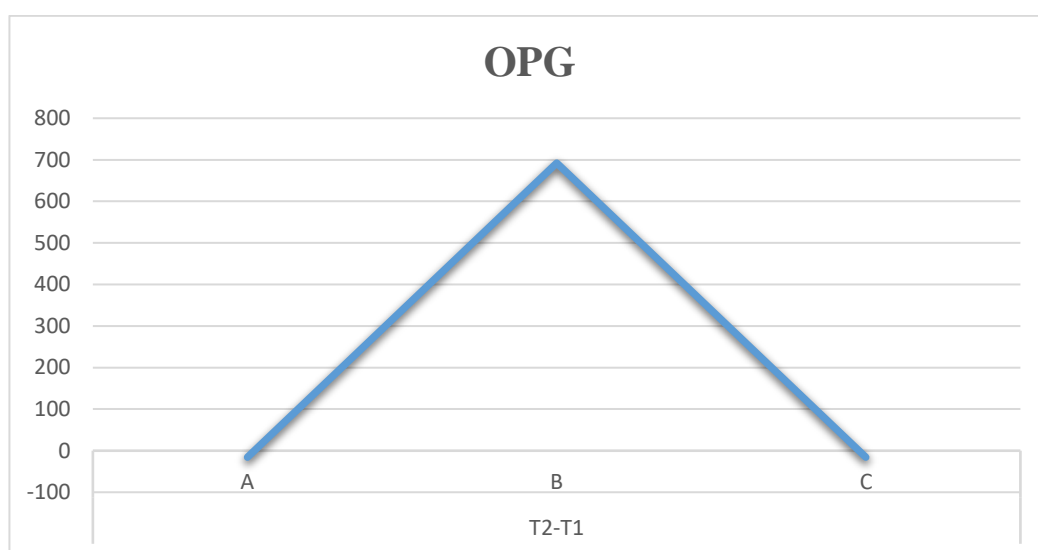
Al igual que en la gráfica 18, la concentración menor de OPG se refleja en el grupo A con el uso de Acceledent®. La tendencia en esta gráfica fue igual a la anterior, aunque los niveles de OPG en el grupo B de la semana 4 a la 6 fue superior. Sin embargo, la comparación de los cambios entre los tres grupos no fue significativa ($p=0,371$).



Gráfica 18. Expresión de OPG, medido en picogramos (pg), en el diente experimental las primeras 6 semanas del tratamiento de ortodoncia.

Cambios T2-T1 (4-6 semanas)

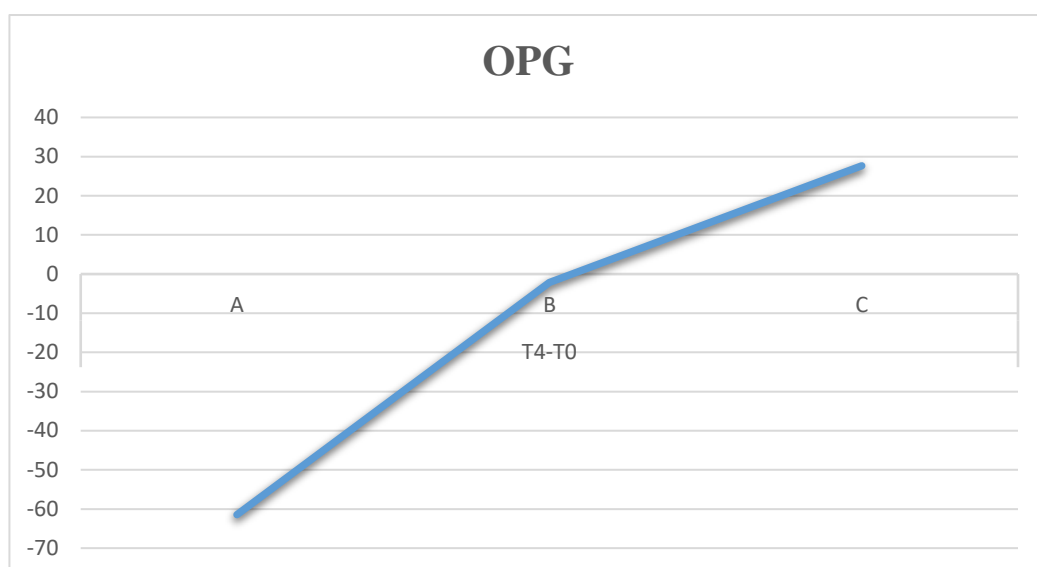
En la gráfica 19, la concentración mayor de OPG se localizó en el grupo B, respecto al C, por lo que la formación ósea se promovió más cambiando de alineador cada 14 días y no cada 7, sin la utilización de dispositivos de vibración. Sin embargo, la comparación de los cambios entre los tres grupos no fue significativa ($p=0,470$).



Gráfica 19. Expresión de OPG, medido en picogramos(pg), en el diente experimental desde la semana 4 a la sexta

Cambios T4-T0 (0-18 semanas)

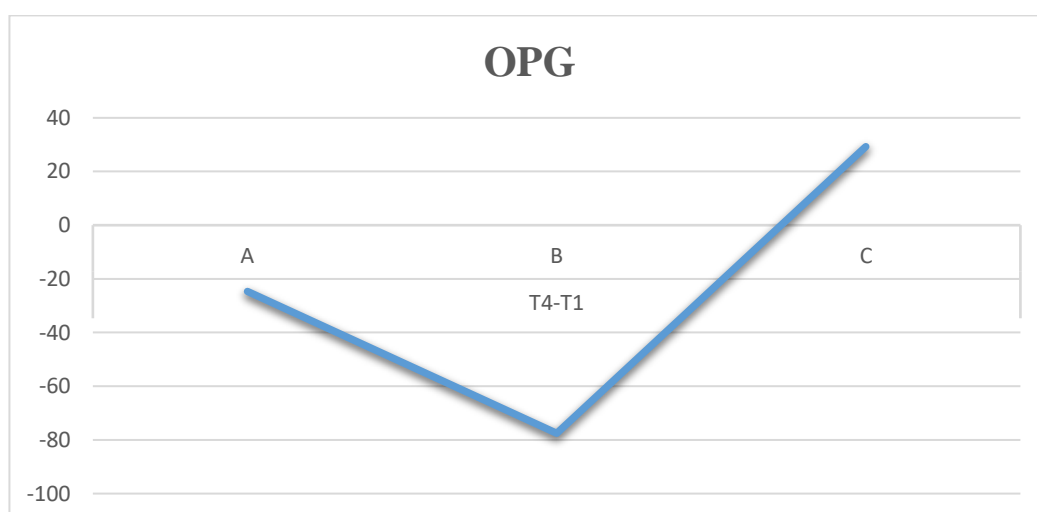
En la siguiente gráfica (gráfica 20), se detalla como en el grupo A en el que se utilizó Aceledent® desde el inicio, la concentración de OPG fue la menor de entre los grupos estudiados y el C, sin uso de vibración, es el que mayor concentración de OPG (pg) se observó. Sin embargo, la comparación de los cambios entre los tres grupos no fue significativa ($p=0,528$).



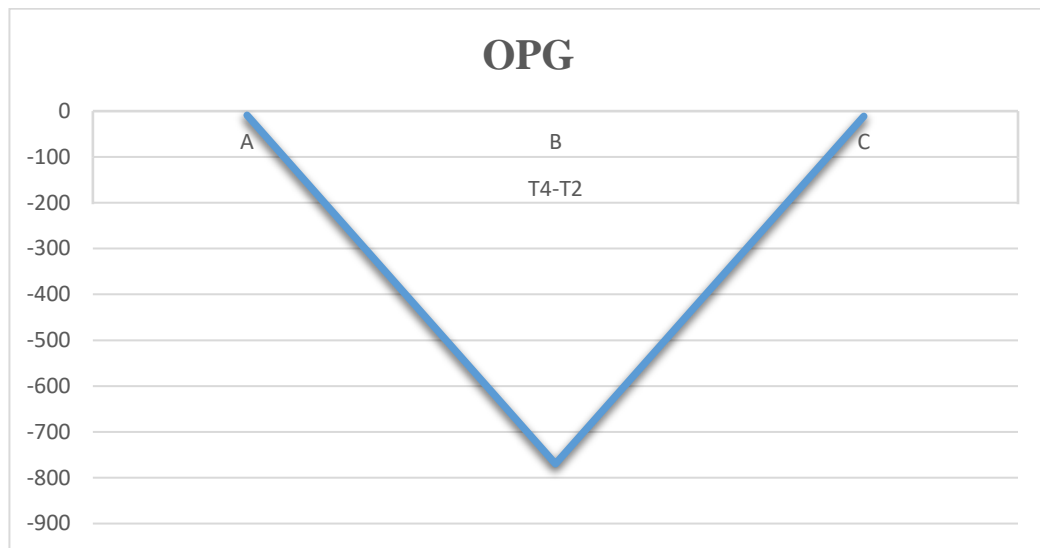
Gráfica 20. Expresión de OPG, medido en picogramos (pg), en el diente experimental desde el inicio del tratamiento hasta la semana 18

Cambios T4-T1 (4-18 semanas)

En la gráfica 21, la mayor concentración de OPG se observa en el grupo C desde las 4 a las 18 semanas desde el inicio del tratamiento, bajando considerablemente en el grupo B respecto al inicio de movimiento dentario y favoreciendo por tanto la osteoclastogénesis respecto al grupo A, que en este periodo solo utilizaba Acceledent® 2 semanas respecto a las 6 del B y sin uso del mismo en el grupo C. Sin embargo, la comparación de los cambios entre los tres grupos no fue significativa ($p= 0,506$).



Gráfica 21. Expresión de OPG, medido en picogramos (pg) en el lado de presión desde la semana 4 hasta la semana 18.

Cambios T4-T2 (6-18 semanas)

Gráfica 22. Expresión de OPG en el lado de presión desde la semana 6 hasta la semana 18. El uso de Acceledent® en el grupo B, provocó una disminución de OPG respecto a los otros grupos. La comparación de los cambios entre los tres grupos no fue significativa ($p= 0,390$)

VI.4 ÍNDICE GINGIVAL, ÍNDICE DE PLACA Y SANGRADO AL SONDAJE

VI.4.1 ÍNDICE GINGIVAL, ÍNDICE DE PLACA Y SANGRADO AL SONDAJE INTRAGRUPPO

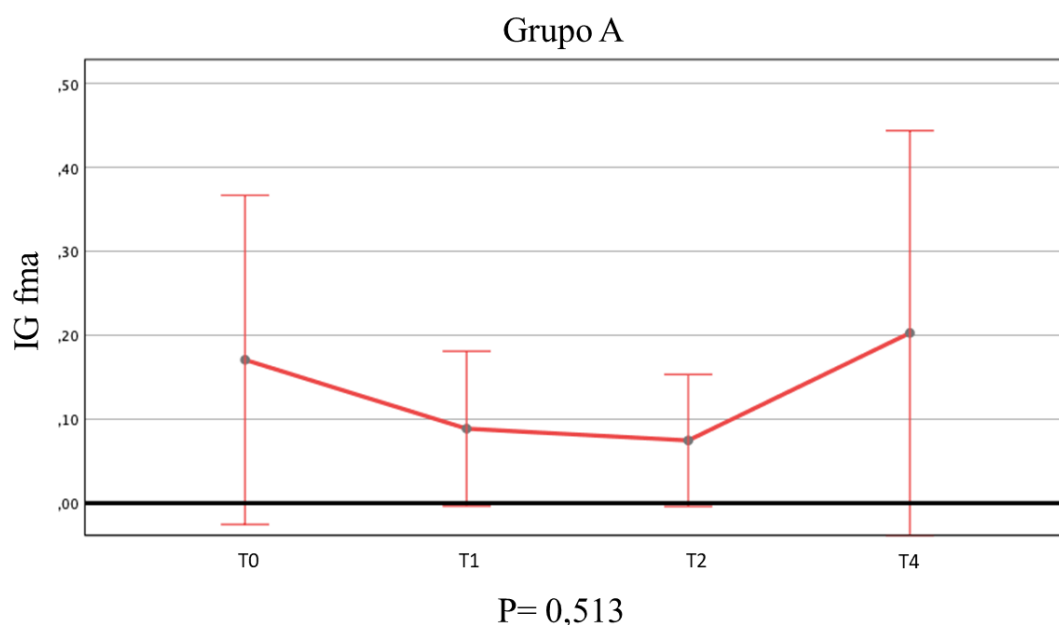
Durante el proceso de recogida de muestras de fluido crevicular en cada una de las visitas, se recogieron los valores de índice gingival (IG), índice de placa (IP) y sangrado al sondaje (SS) según los criterios de Silness y Loe. Se seleccionaron desde el inicio dos dientes, uno test que tenía movimiento y solía ser un incisivo inferior y un control que no tenía movimiento según lo establecido en el Clincheck® y que solía corresponder a un molar de la misma arcada. A continuación, se muestran las medias de los valores de los puntos registrados por visita y paciente y denominado como Full Mouth Assessment (FMA) y las medias del punto determinado al inicio como toma de recogida de fluido crevicular en la zona de presión denominado como Site Assessment (SA).

En la tabla 10 se detalla el índice gingival en el grupo A, en los diferentes momentos de recogida de muestra tanto de FMA como en SA, dando como resultados, valores no significativos estadísticamente y no influyendo por tanto en la recogida de muestra de fluido crevicular.

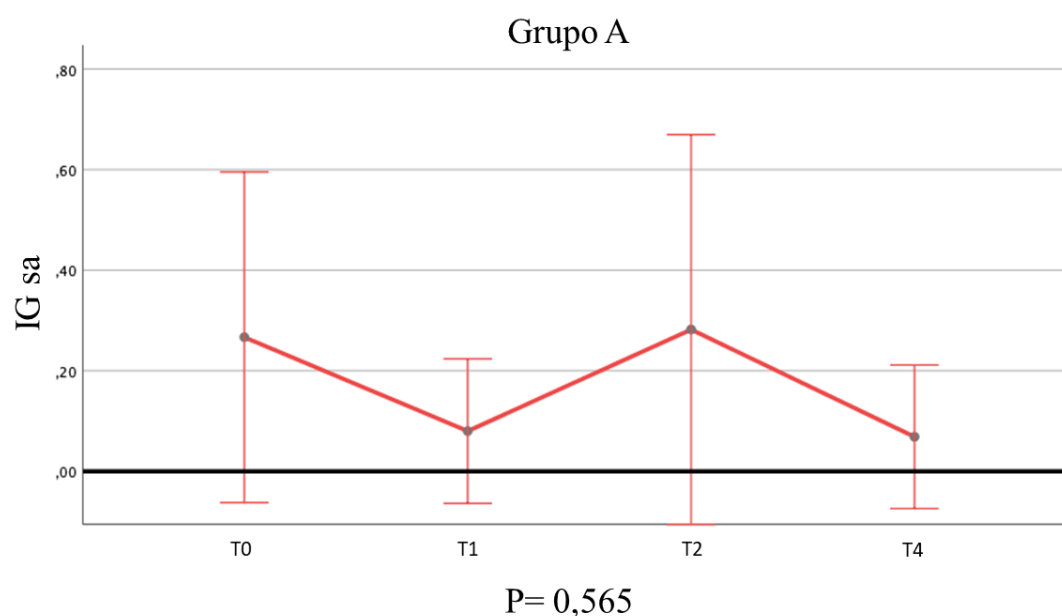
GRUPO A	N	Media		DE		Mínimo		Máximo	
	FMA/SA	FMA	SA	FMA	SA	FMA	SA	FMA	SA
IG T0	15	0,17	0,27	0,35	0,59	0	0	1,33	2
IG T1	15	0,09	0,08	0,17	0,26	0	0	0,47	1
IG T2	15	0,07	0,28	0,14	0,70	0	0	0,53	2
IG T4	15	0,20	0,07	0,44	0,26	0	0	1,70	1
P			FMA=0,513			SA=0,565			

Tabla 10. Índice gingival en grupo A en toma basal, a las 4 semanas, a las 6 semanas y a las 18 semanas. N=tamaño muestral; DE=desviación estándar; valores mínimos y máximos recogidos tanto en FMA (Full Mouth Assessment) como en SA (Site Assessment); p=significación estadística de FMA y SA

En el grupo A se observó cómo no hay diferencias significativas que puedan haber influido en la toma de registros de fluido crevicular.



Gráfica 23. Índice gingival evolutivo del grupo A con las medias obtenidas de todos los puntos registrados (FMA) en los diferentes momentos de tiempo. T0; basal, T1; a las 4 semanas tras el inicio de tratamiento de ortodoncia, T2; a las 6 semanas, T3; a las 12 semanas, T4; a las 18 semanas tras el inicio de tratamiento mediante ortodoncia

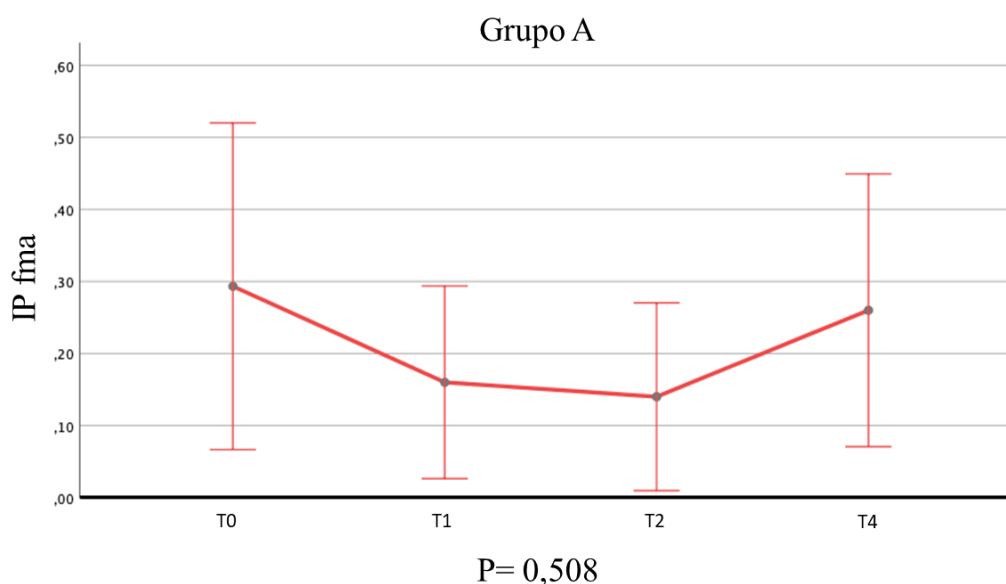


Gráfica 24. Índice gingival evolutivo del grupo A con las medias obtenidas del punto donde se tomó la muestra de fluido crevicular (SA) en los diferentes momentos de tiempo. T0; basal, T1; a las 4 semanas tras el inicio de tratamiento de ortodoncia, T2; a las 6 semanas, T3; a las 12 semanas, T4; a las 18 semanas tras el inicio de tratamiento mediante ortodoncia

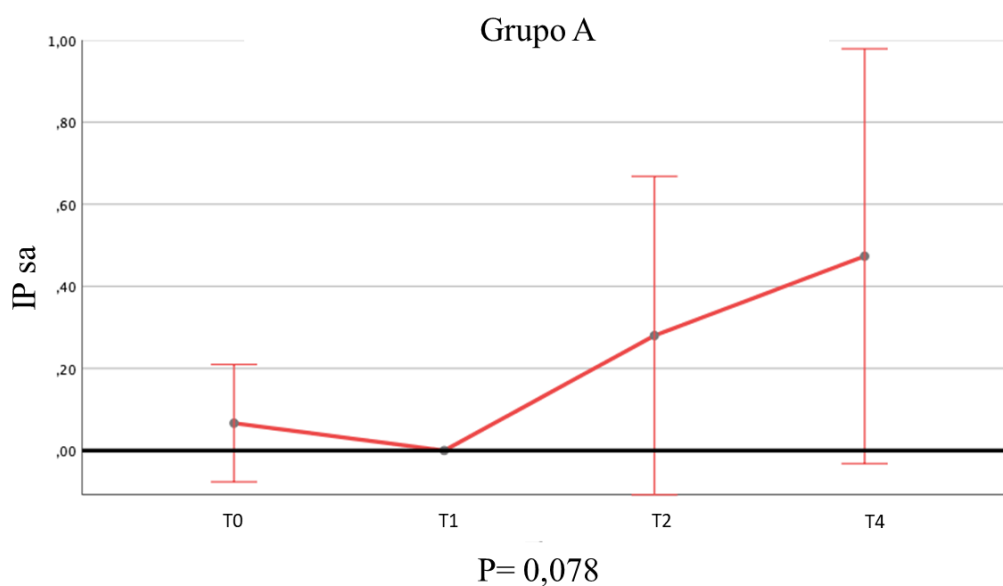
En la tabla 11 se muestra el índice de placa en el grupo A, en los diferentes momentos de recogida de muestra tanto FMA como en SA, dando como resultados valores no significativos estadísticamente.

GRUPO A	N	Media		DE		Mínimo		Máximo	
		FMA/SA	FMA SA	FMA SA	SA	FMA SA	SA	FMA SA	SA
IP T0	15		0,29 0,07	0,41 0,26		0 0		1,2 1	
IP T1	15		0,16 0	0,24 0		0 0		0,7 0	
IP T2	15		0,14 0,28	0,24 0,70		0 0		0,9 2	
IP T4	15		0,26 0,473	0,342 0,912		0 0		1 3	
P			FMA=0,508		SA=0,078				

Tabla 11. Índice gingival en grupo A de T0-T4. N=tamaño muestral; DE=desviación estándar; valores mínimos y máximos recogidos tanto en FMA (Full Mouth Assessment) como en SA (Site Assessment); p=significación estadística de FMA y SA



Gráfica 25. Índice placa evolutivo del grupo A con las medias obtenidas de todos los puntos registrados (FMA) en los diferentes momentos de tiempo. T0; basal, T1; a las 4 semanas tras el inicio de tratamiento de ortodoncia, T2; a las 6 semanas, T3; a las 12 semanas, T4; a las 18 semanas tras el inicio de tratamiento mediante ortodoncia

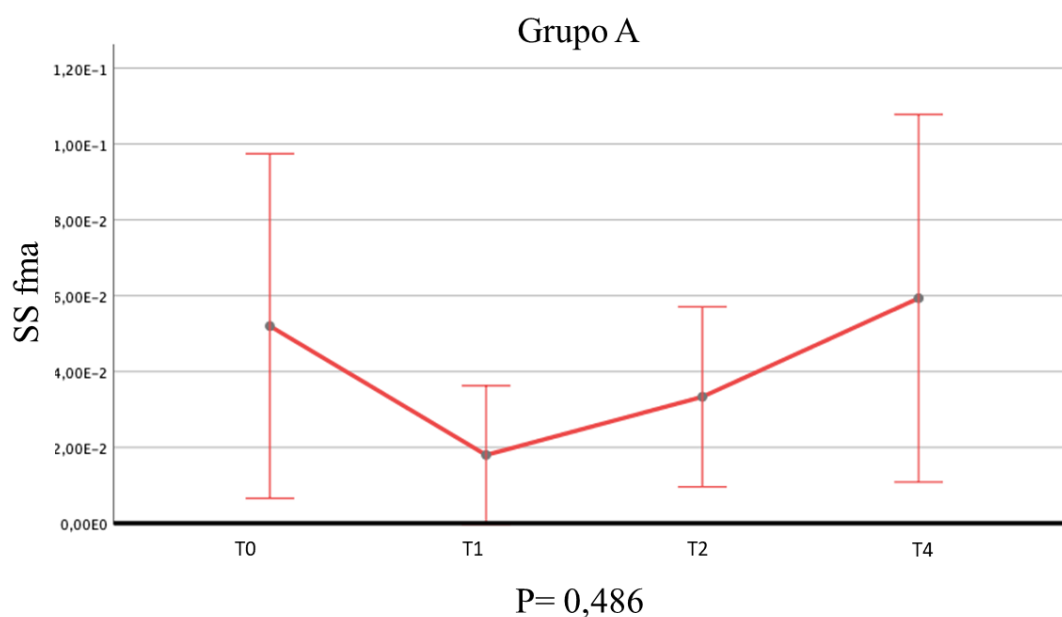


Gráfica 26. Índice placa evolutivo del grupo A con las medias obtenidas del punto donde se tomó la muestra de fluido crevicular (SA) en los diferentes momentos de tiempo. T0; basal, T1; a las 4 semanas tras el inicio de tratamiento de ortodoncia, T2; a las 6 semanas, T3; a las 12 semanas, T4; a las 18 semanas tras el inicio de tratamiento mediante ortodoncia

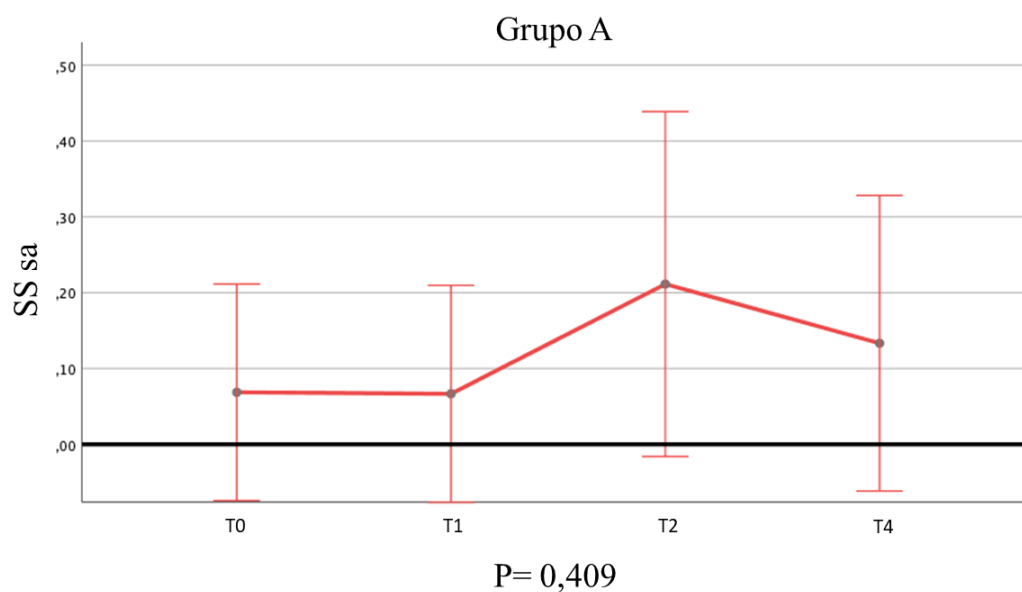
Por último, en este grupo, el sangrado al sondaje que se muestra en la tabla 12, tampoco mostró diferencias significativas, no influyendo en la recogida de muestra de fluido crevicular.

GRUPO A	N	Media		DE		Mínimo		Máximo	
		FMA/SA	FMA SA	FMA	SA	FMA	SA	FMA	SA
SS T0	15	0,1	0,1	0,1	0,3	0	0	0,25	1
SS T1	15	0	0,1	0	0,3	0	0	0,08	1
SS T2	15	0,0	0,2	0,0	0,4	0	0	0,11	1
SS T4	15	0,1	0,1	0,1	0,4	0	0	0,25	1
P		FMA=0,486				SA=0,409			

Tabla 12. Índice gingival en grupo A de T0-T4. N=tamaño muestral; DE=desviación estándar; valores mínimos y máximos recogidos tanto en FMA (Full Mouth Assessment) como en SA (Site Assessment); p=significación estadística de FMA y SA



Gráfica 27. Sangrado al sondaje del grupo A con las medias obtenidas de todos los puntos registrados (FMA) en los diferentes momentos de tiempo. T0; basal, T1; a las 4 semanas tras el inicio de tratamiento de ortodoncia, T2; a las 6 semanas, T3; a las 12 semanas, T4; a las 18 semanas tras el inicio de tratamiento mediante ortodoncia



Gráfica 28. Sangrado al sondaje del grupo A con las medias obtenidas del punto donde se tomó la muestra de fluido crevicular (SA) en los diferentes momentos de tiempo. T0; basal, T1; a las 4 semanas tras el inicio de tratamiento de ortodoncia, T2; a las 6 semanas, T3; a las 12 semanas, T4; a las 18 semanas tras el inicio de tratamiento mediante ortodoncia

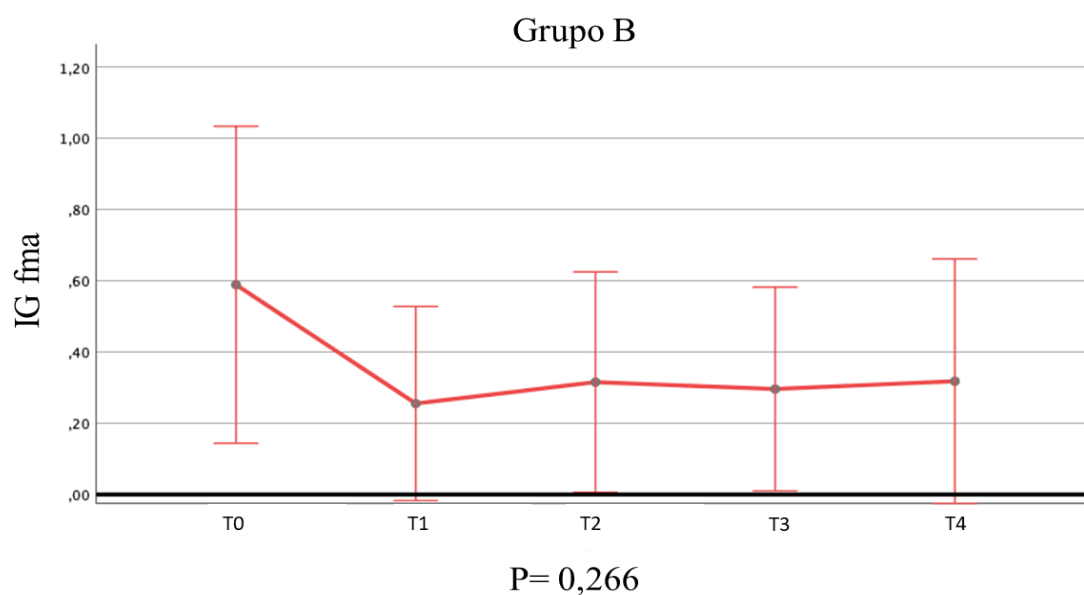
A continuación, se describe el índice gingival, de placa y sangrado al sondaje del grupo B. La tabla 13, muestra el índice gingival tanto de FMA como SA en los diferentes momentos de recogida de muestra.

GRUPO B	N	Media		DE		Mínimo		Máximo	
	FMA/SA	FMA	SA	FMA	SA	FMA	SA	FMA	SA
IG T0	15	0,59	0,67	0,80	1,05	0	0	2,30	3
IG T1	15	0,26	0,33	0,49	0,72	0	0	1,73	2
IG T2	15	0,32	0,20	0,56	0,56	0	0	1,83	2
IG T3	15	0,30	0,20	0,52	0,56	0	0	1,50	2
IG T4	15	0,32	0,33	0,62	0,72	0	0	2,00	2
P			FMA=0,266			SA=0,132			

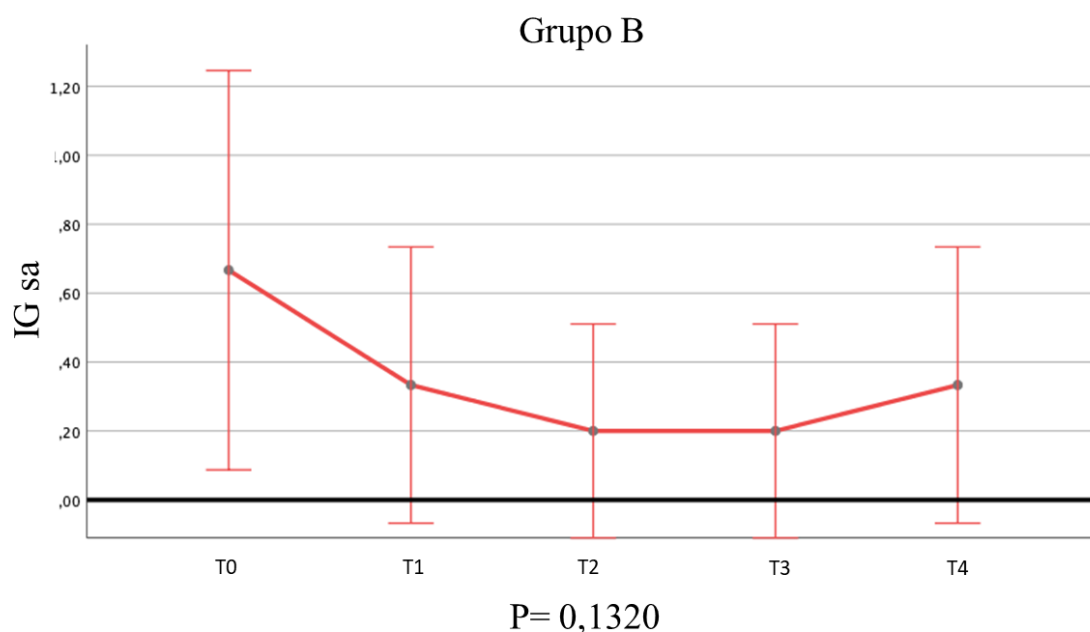
Tabla 13. Índice gingival del grupo B de T0-T4. N=tamaño muestral; DE=desviación estándar; valores mínimos y máximos recogidos tanto en FMA (Full Mouth Assessment) como en SA (Site Assessment); p=significación estadística de FMA y SA

En el grupo B, se analizaron las gráficas de IG, IP y SS que se obtuvieron tanto del punto dónde se ha recogido la muestra de fluido crevicular, como en el resto de dientes registrados en cada una de las visitas detalladas.

En el grupo B se observó cómo no hay diferencias significativas que puedan haber influido en la toma de registros de fluido crevicular.



Gráfica 29. Índice gingival evolutivo del grupo B con las medias obtenidas de todos los puntos registrados (FMA) en los diferentes momentos de tiempo. T0; basal, T1; a las 4 semanas tras el inicio de tratamiento de ortodoncia, T2; a las 6 semanas, T3; a las 12 semanas, T4; a las 18 semanas tras el inicio de tratamiento mediante ortodoncia

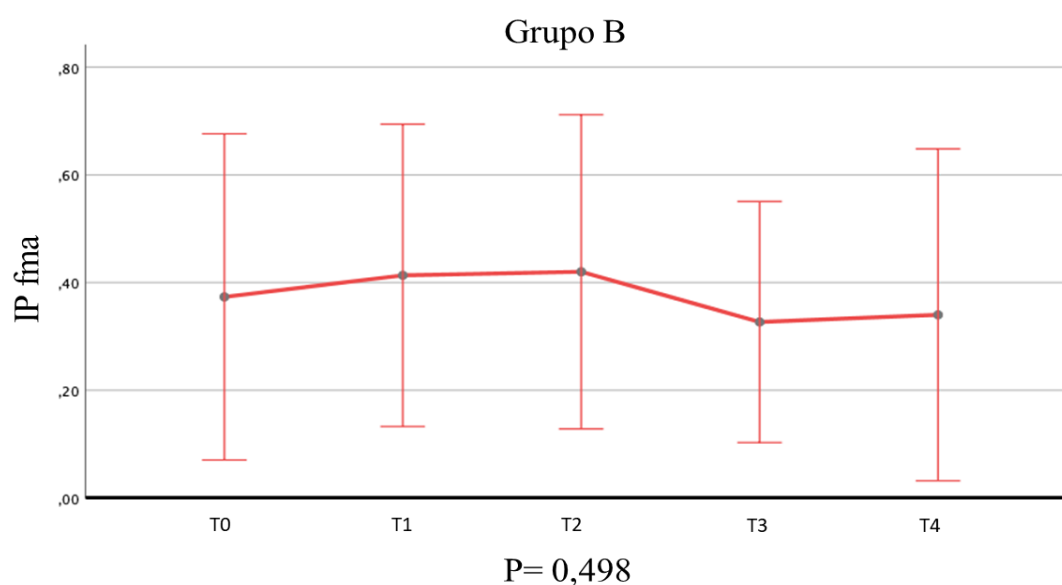


Gráfica 30. Índice gingival evolutivo del grupo B con las medias obtenidas del punto donde se tomó la muestra de fluido crevicular (SA) en los diferentes momentos de tiempo. T0; basal, T1; a las 4 semanas tras el inicio de tratamiento de ortodoncia, T2; a las 6 semanas, T3; a las 12 semanas, T4; a las 18 semanas tras el inicio de tratamiento mediante ortodoncia

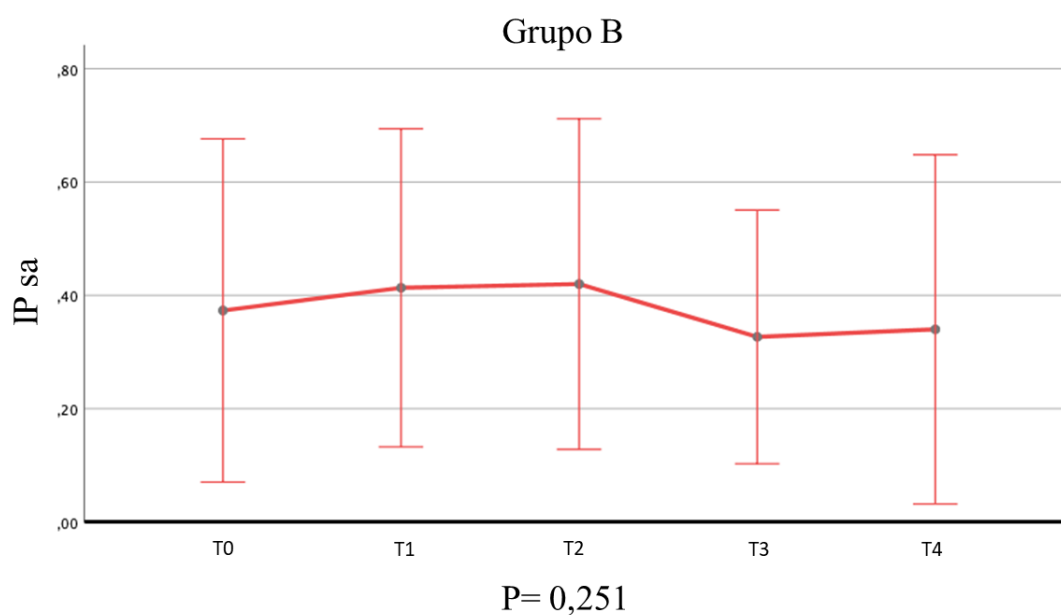
En la tabla 14, se detallan los datos de Índice de placa del grupo B, dando valores no significativos.

GRUPO B	N	Media		DE		Mínimo		Máximo	
		FMA/SA	FMA SA	FMA SA		FMA SA		FMA SA	
IP T0	15		0,37 0,40	0,55 0,91		0 0		1,5 3	
IP T1	15		0,41 0,33	0,51 0,82		0 0		1,6 3	
IP T2	15		0,42 0,40	0,53 0,91		0 0		1,7 3	
IP T3	15		0,33 0,07	0,40 0,26		0 0		1,1 1	
IP T4	15		0,34 0,27	0,56 0,80		0 0		1,9 3	
P			FMA=0,498		SA=0,251				

Tabla 14. Índice de placa del grupo B de T0-T4. N=tamaño muestral; DE=desviación estándar; valores mínimos y máximos recogidos tanto en FMA (Full Mouth Assessment) como en SA (Site Assessment); p=significación estadística de FMA y SA



Gráfica 31. Índice placa evolutivo del grupo B con las medias obtenidas de todos los puntos registrados (FMA) en los diferentes momentos de tiempo. T0; basal, T1; a las 4 semanas tras el inicio de tratamiento de ortodoncia, T2; a las 6 semanas, T3; a las 12 semanas, T4; a las 18 semanas tras el inicio de tratamiento mediante ortodoncia

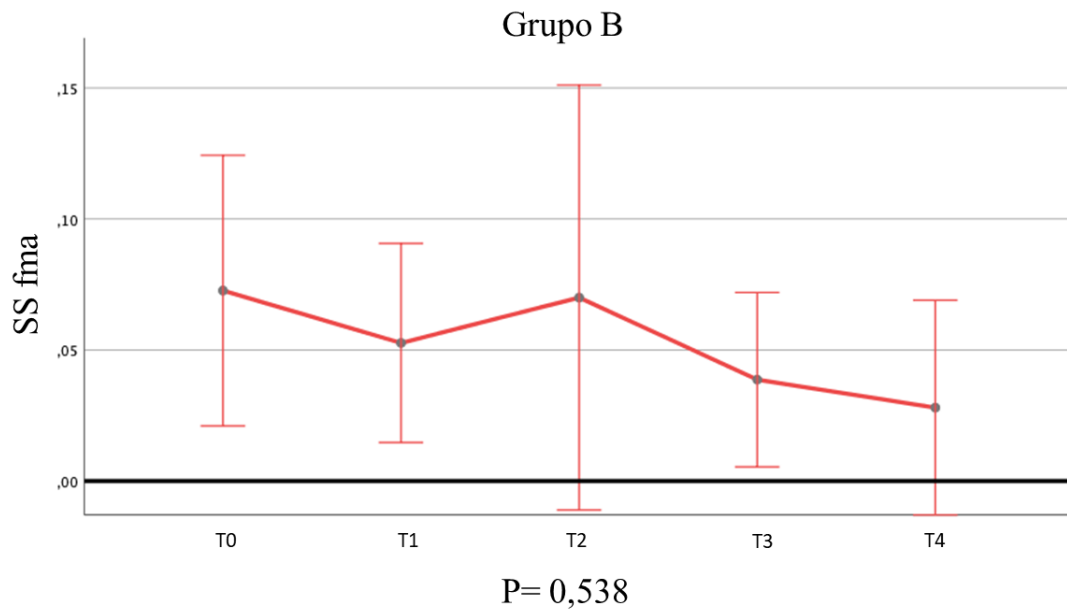


Gráfica 32. Índice placa evolutivo del grupo B con las medias obtenidas del punto donde se tomó la muestra de fluido crevicular (SA) en los diferentes momentos de tiempo. T0; basal, T1; a las 4 semanas tras el inicio de tratamiento de ortodoncia, T2; a las 6 semanas, T3; a las 12 semanas, T4; a las 18 semanas tras el inicio de tratamiento mediante ortodoncia

Por último, del grupo B, la tabla 15, muestra el sangrado al sondaje. No hay diferencias significativas por lo que no se ha visto afectado la recogida de muestra de fluido crevicular.

GRUPO B	N	Media		DE		Mínimo		Máximo	
		FMA/SA	FMA SA	FMA SA	SA	FMA SA	SA	FMA SA	SA
SS T0	15	0,07	0	0,09	0	0	0	0,25	0
SS T1	15	0,05	0	0,07	0	0	0	0,22	0
SS T2	15	0,07	0	0,15	0	0	0	0,50	0
SS T3	15	0,04	0	0,06	0	0	0	0,19	0
SS T4	15	0,03	0	0,07	0	0	0	0,28	0
P				FMA=0,538		SA= -			

Tabla 15. Sangrado al sondaje del grupo B de T0-T4. N=tamaño muestral; DE=desviación estándar; valores mínimos y máximos recogidos tanto en FMA (Full Mouth Assessment) como en SA (Site Assessment); p=significación estadística de FMA y SA



Gráfica 33. Sangrado al sondaje del grupo B con las medias obtenidas de todos los puntos registrados (FMA) en los diferentes momentos de tiempo. T0; basal, T1; a las 4 semanas tras el inicio de tratamiento de ortodoncia, T2; a las 6 semanas, T3; a las 12 semanas, T4; a las 18 semanas tras el inicio de tratamiento mediante ortodoncia

Por último, se describe el índice gingival, de placa y sangrado al sondaje del grupo C. La tabla 14, muestra el índice gingival tanto de FMA como SA en los diferentes momentos de recogida de muestra.

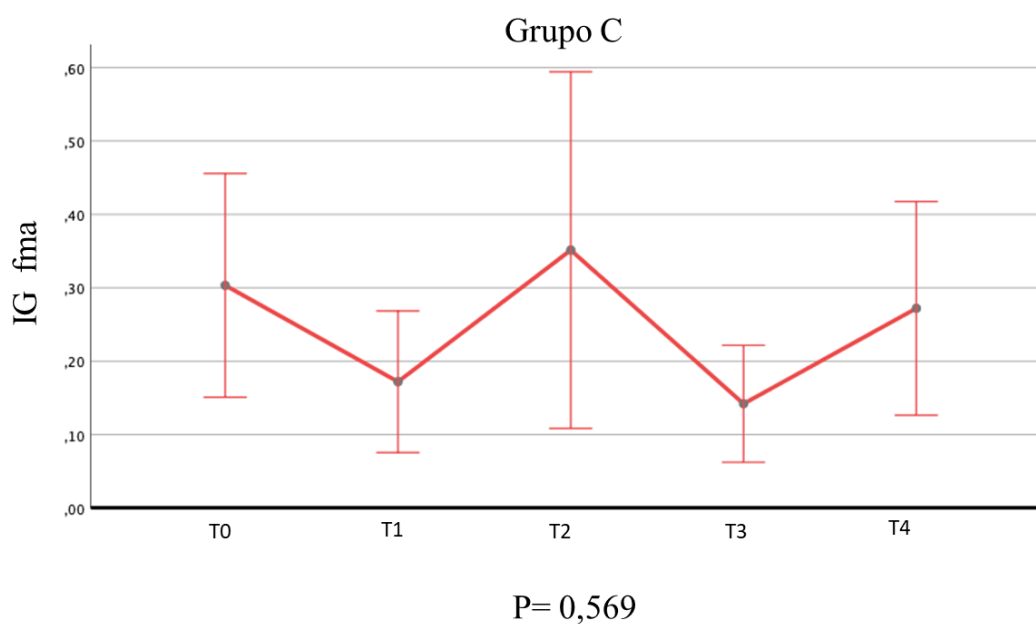
Respecto al índice gingival, solo cuando se habla SA hay significación estadística que pudo afectar a la recogida de muestra.

GRUPO C	N	Media		DE		Mínimo		Máximo	
	FMA/SA	FMA	SA	FMA	SA	FMA	SA	FMA	SA
IG T0	15	0,3	0,53	0,27	0,64	0	0	0,90	2
IG T1	15	0,2	0,27	0,17	0,46	0	0	0,53	1
IG T2	15	0,4	0,47	0,43	0,64	0	0	1,23	2
IG T3	15	0,1	0,13	0,14	0,35	0	0	0,40	1
IG T4	15	0,3	0,07	0,26	0,26	0	0	0,87	1
P			FMA=0,569			SA=0,006			

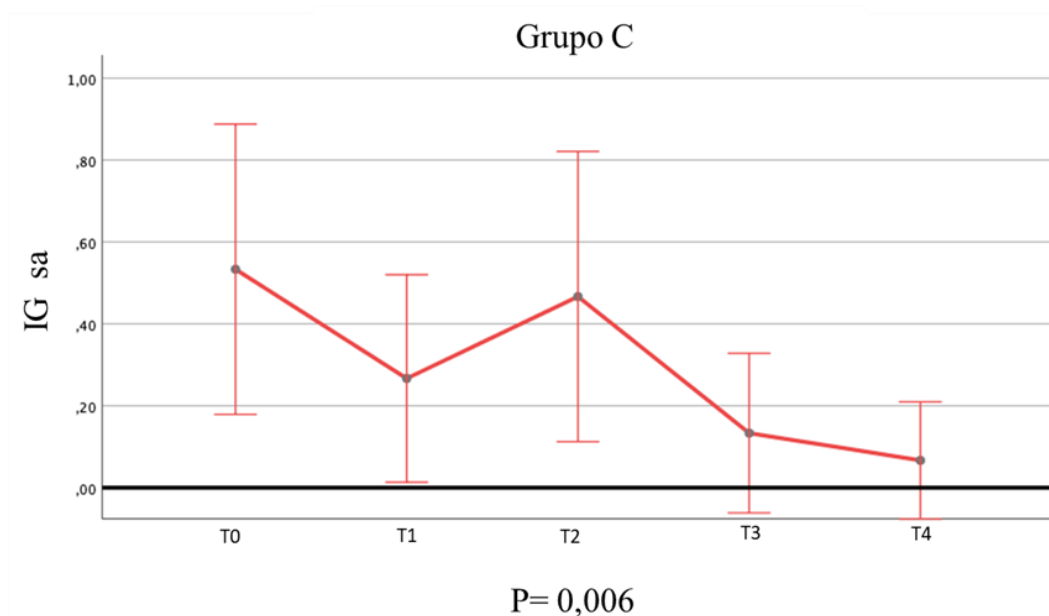
Tabla 16. Índice gingival del grupo C de FMA y SA. N=tamaño muestral; DE=desviación estándar; valores mínimos y máximos recogidos tanto en FMA (Full Mouth Assessment) como en SA (Site Assessment); p=significación estadística de FMA y SA

Por último, en el grupo C, se analizaron las gráficas de IG, IP y SS que se han obtenido tanto del punto dónde se recogió la muestra de fluido crevicular, como en el resto de dientes registrados en cada una de las visitas detalladas.

Se puede observar cómo no hubo diferencias significativas que puedan haber influido en la toma de registros de fluido crevicular. Solo en el índice gingival del punto donde se tomó la muestra (SA) tuvo significación estadística.



Gráfica 34. Índice gingival evolutivo del grupo C con las medias obtenidas de todos los puntos registrados (FMA) en los diferentes momentos de tiempo. T0; basal, T1; a las 4 semanas tras el inicio de tratamiento de ortodoncia, T2; a las 6 semanas, T3; a las 12 semanas, T4; a las 18 semanas tras el inicio de tratamiento mediante ortodoncia

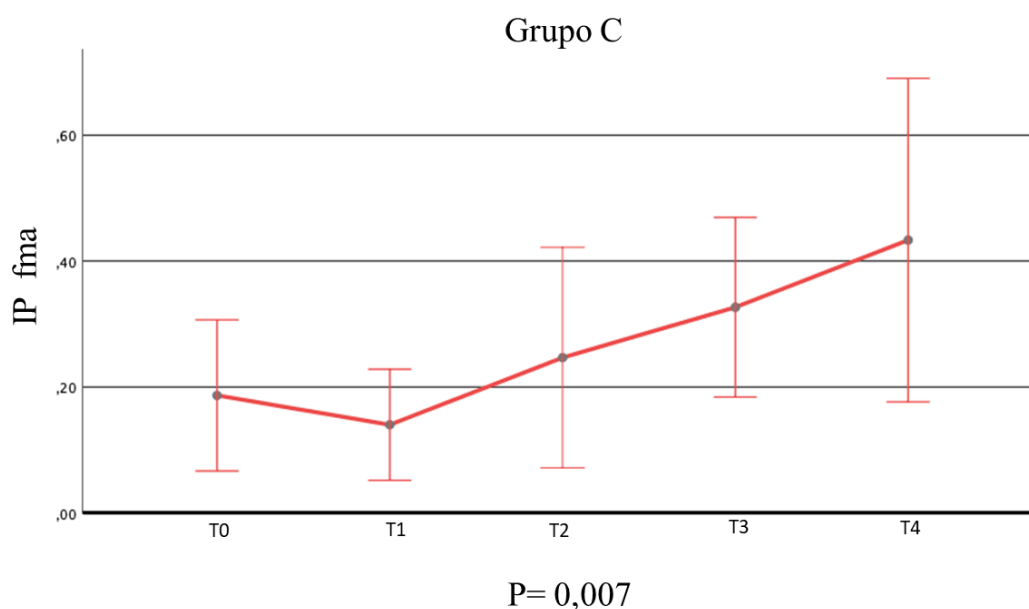


Gráfica 35. Índice gingival evolutivo del grupo C con las medias obtenidas del punto registrado desde el inicio (SA) en los diferentes momentos de tiempo. T0; basal, T1; a las 4 semanas tras el inicio de tratamiento de ortodoncia, T2; a las 6 semanas, T3; a las 12 semanas, T4; a las 18 semanas tras el inicio de tratamiento mediante ortodoncia

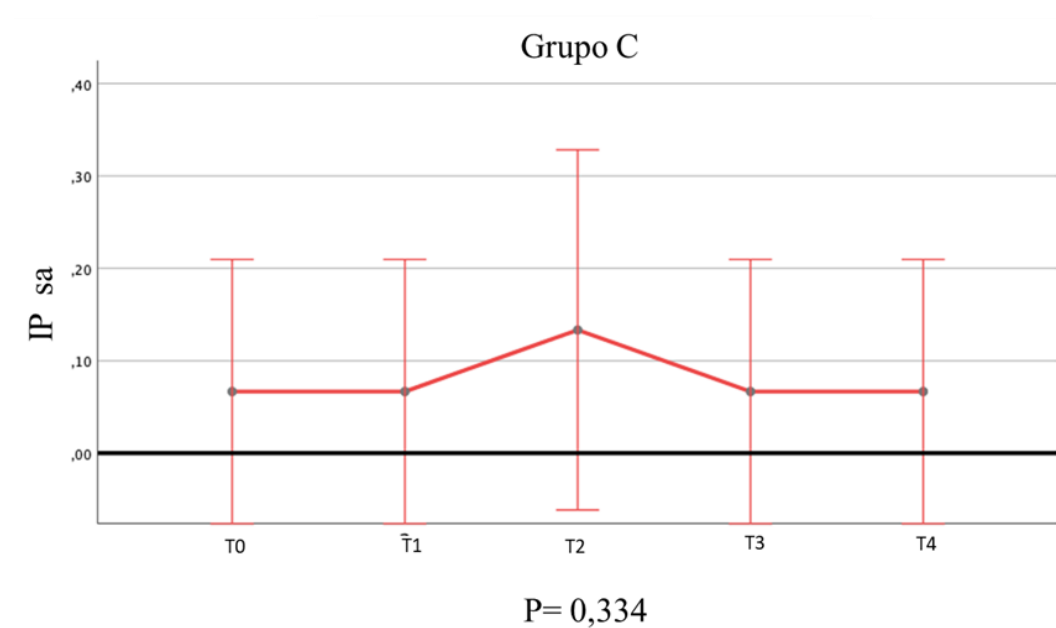
Como se puede observar en la siguiente tabla, solo en FMA (Full Mouth Assessment) podría haber influido en la toma de registros por dar un valor significativo.

GRUPO C	N	Media		DE		Mínimo		Máximo	
		FMA/SA	FMA SA	FMA SA	FMA SA	FMA SA	FMA SA	FMA SA	FMA SA
IP T0	15		0,19 0,07	0,22 0,26	0 0	0,60 0			
IP T1	15		0,14 0,07	0,16 0,26	0 0	0,60 0			
IP T2	15		0,25 0,13	0,32 0,35	0 0	1,00 0			
IP T3	15		0,33 0,07	0,26 0,26	0 0	0,80 0			
IP T4	15		0,43 0,07	0,46 0,26	0 0	1,80 0			
P			FMA=0,007		SA=0,334				

Tabla 17. Índice de placa del grupo C de FMA y SA. N=tamaño muestral; DE=desviación estándar; valores mínimos y máximos recogidos tanto en FMA (Full Mouth Assessment) como en SA (Site Assessment); p=significación estadística de FMA y SA

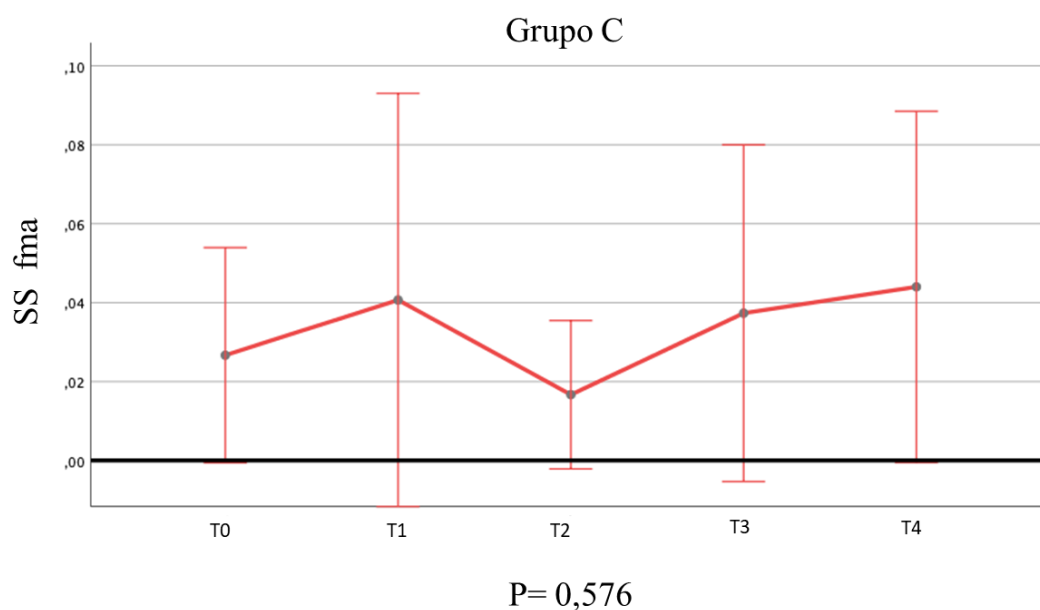


Gráfica 36. Índice placa evolutivo del grupo C con las medias obtenidas de todos los puntos registrados (FMA) en los diferentes momentos de tiempo. T0; basal, T1; a las 4 semanas tras el inicio de tratamiento de ortodoncia, T2; a las 6 semanas, T3; a las 12 semanas, T4; a las 18 semanas tras el inicio de tratamiento mediante ortodoncia

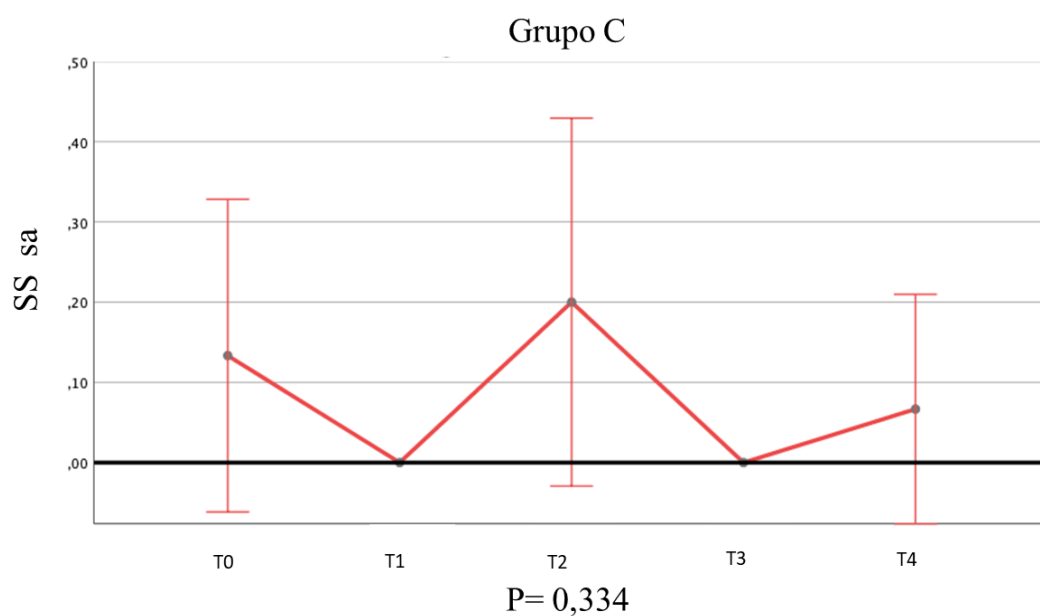


GRUPO C	N	Media		DE		Mínimo		Máximo	
		FMA/SA	FMA SA	FMA SA	FMA SA	FMA SA	FMA SA	FMA SA	FMA SA
SS T0	15		0,03 0,13	0,05 0,35	0 0	0,14 1			
SS T1	15		0,04 0	0,09 0	0 0	0,36 0			
SS T2	15		0,02 0,20	0,03 0,41	0 0	0,11 1			
SS T3	15		0,04 0,00	0,08 0,00	0 0	0,25 0			
SS T4	15		0,04 0,07	0,08 0,26	0 0	0,30 1			
P			FMA=0,576 SA=0,334						

Tabla 18. Sangrado al sondaje del grupo C de FMA y SA. N=tamaño muestral; DE=desviación estándar; valores mínimos y máximos recogidos tanto en FMA (Full Mouth Assessment) como en SA (Site Assessment); p=significación estadística en FMA y SA



Gráfica 38. Sangrado al sondaje del grupo C con las medias obtenidas de todos los puntos registrados (FMA) en los diferentes momentos de tiempo. T0; basal, T1; a las 4 semanas tras el inicio de tratamiento de ortodoncia, T2; a las 6 semanas, T3; a las 12 semanas, T4; a las 18 semanas tras el inicio de tratamiento mediante ortodoncia



Gráfica 39. Sangrado al sondaje del grupo C con las medias obtenidas del punto donde se tomó la muestra de fluido crevicular (SA). T0; basal, T1; a las 4 semanas tras el inicio de tratamiento de ortodoncia, T2; a las 6 semanas, T3; a las 12 semanas, T4; a las 18 semanas tras el inicio de tratamiento mediante ortodoncia.

VI.4.2 ÍNDICE GINGIVAL, ÍNDICE DE PLACA Y SANGRADO AL SONDAJE INTERGRUPOS

A continuación se muestran las gráficas en la que se reflejan las medias de IG, IP y SS tanto de todas las medidas registradas (FMA) como del punto en el que se tomaron las muestras de fluido crevicular (SA), DE=desviación estándar, los valores mínimos y máximos y p=significación estadística de todos los índices entre el grupo A, B y C.

		Media			DE			Mínimo			Máximo			P		
		IG	IP	SS	IG	IP	SS	IG	IP	SS	IG	IP	SS	IG	IP	SS
FMA	A	0,17	0,29	0,05	0,35	0,41	0,05	0,00	0,00	0,00	1,33	1,20	0,25			
	T0 B	0,59	0,37	0,07	0,80	0,55	0,09	0,00	0,00	0,00	2,30	1,50	0,25	0,20	0,87	0,37
	C	0,30	0,19	0,03	0,28	0,22	0,05	0,00	0,00	0,00	0,90	0,60	0,14			
	A	0,09	0,16	0,02	0,17	0,24	0,03	0,00	0,00	0,00	0,47	0,70	0,08			
	T1 B	0,26	0,41	0,05	0,49	0,51	0,07	0,00	0,00	0,00	1,73	1,60	0,22	0,14	1,00	0,28
	C	0,17	0,14	0,04	0,17	0,09	0,09	0,00	0,00	0,00	0,53	0,60	0,36			
	A	0,07	0,14	0,03	0,14	0,24	0,04	0,00	0,00	0,00	0,53	0,90	0,11			
	T2 B	0,32	0,42	0,07	0,56	0,53	0,15	0,00	0,00	0,00	1,83	1,70	0,50	0,24	0,31	0,49
	C	0,35	0,25	0,02	0,44	0,32	0,03	0,00	0,00	0,00	1,23	1,00	0,11			
T3	A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A			
	B	0,30	0,33	0,04	0,52	0,40	0,06	0,00	0,00	0,00	1,5	1,1	0,19	0,74	0,62	0,35
	C	0,14	0,33	0,04	0,14	0,26	0,08	0,00	0,00	0,00	0,40	0,80	0,25			
	A	0,20	0,26	0,06	0,44	0,34	0,09	0,00	0,00	0,00	1,70	1,00	0,25			
	T4 B	0,32	0,34	0,03	0,62	0,56	0,07	0,00	0,00	0,00	2,00	1,90	0,28	0,20	0,25	0,31
	C	0,27	0,43	0,04	0,26	0,46	0,08	0,00	0,00	0,00	0,87	1,80	0,30			

Tabla 19. Media de los datos de IG, IP y SS de FMA; DE=desviación estándar, valores mínimos y máximos; p=significación estadística intergrupos

		Media			DE			Mínimo			Máximo			P		
		IG	IP	SS	IG	IP	SS	IG	IP	SS	IG	IP	SS	IG	IP	SS
T0	A	0,27	0,07	0,07	0,59	0,26	0,26	0	0	0	2	1	1	0,39	0,37	0,34
	B	0,67	0,40	0,00	1,05	0,91	0	0	0	0	3	3	0			
	C	0,53	0,07	0,13	0,64	0,26	0,35	0	0	0	2	1	1			
T1	A	0,08	0,07	0,07	0,26	0,26	0,26	0	0	0	1	0	1	0,62	0,15	0,37
	B	0,33	0,33	0	0,72	0,82	0	0	0	0	2	3	0			
	C	0,27	0,07	0	0,46	0,26	0	0	0	0	1	1	0			
SA T2	A	0,28	0,13	0,21	0,64	0,70	0,41	0	0	0	2	2	1	0,28	0,81	0,12
	B	0,20	0,40	0,00	0,56	0,91	0,00	0	0	0	2	3	1			
	C	0,47	0,13	0,20	0,64	0,35	0,41	0	0	0	2	1	0			
T3	A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	0,97	1,00	1,00
	B	0,20	0,07	0,00	0,56	0,26	0,00	0	0	0	2	1	0			
	C	0,13	0,07	0,00	0,35	0,26	0,00	0	0	0	1	0	0			
T4	A	0,07	0,47	0,13	0,26	0,91	0,35	0	0	0	1	3	1	0,51	0,15	0,35
	B	0,33	0,27	0	0,72	0,8	0	0	0	0	2	3	0			
	C	0,07	0,07	0,07	0,26	0,26	0,26	0	0	0	1	1	1			

Tabla 20. Media de los datos de IG, IP y SS de SA; DE=desviación estándar, valores mínimos y máximos; p=significación estadística intergrupos

VII. DISCUSIÓN

VII.1 SELECCIÓN DE LA MUESTRA

VII.1.1 TÉCNICA DE MUESTREO

VII.1.2 TAMAÑO DE LA MUESTRA

... VII.1.3 CRITERIOS DE INCLUSIÓN Y EXCLUSIÓN

VII.2 SELECCIÓN DE LA TÉCNICA

VII.2.1 RECOGIDA DE MUESTRA

VII.2.2 TÉCNICA DE LABORATORIO. ANÁLISIS BIOQUÍMICO

VII.3 RESULTADOS INTRAGRUPOS

VII.4 RESULTADOS INTERGRUPOS

VII.5 OTRAS CONSIDERACIONES Y LIMITACIONES

VII.1 SELECCIÓN DE LA MUESTRA

VII.1.1 TÉCNICA DE MUESTREO

Los pacientes del estudio fueron seleccionados en el Departamento de Especialidades Clínicas Odontológicas (sección de Ortodoncia) de la UCM en Madrid, Clínica Lacasa Litner y Clínicas Ortom Madrid. Tras la exploración inicial y una vez comprobado que cumplían los criterios de inclusión y exclusión, se asignaron aleatoriamente a cada uno de los tres grupos utilizando una lista de números aleatorios generada por ordenador. Nuestro periodo de selección de la muestra se realizó entre los años 2015-2019. Durante el mismo, se seleccionaron 40 pacientes de media por clínica, de los cuales se descartaron por los criterios antes mencionados o por la no utilización de la aparatología como Invisalign® y/o Acceleident®, 25 pacientes por clínica o 75 pacientes entre todas, llevando a cabo el estudio con 45 pacientes.

Una vez que los pacientes fueron incluidos en el estudio, se realizó la asignación aleatoria a cada uno de los tres grupos descritos. Las principales ventajas de la randomización o aleatorización es que los participantes tenían la misma probabilidad de ser asignados a uno de los tres grupos, promoviendo así un equilibrio de la distribución de variables que podrían afectar al resultado del estudio. Además, de esta forma, los tres grupos formados eran representativos de la población objeto de estudio.

Todos ellos aceptaron formar parte del estudio mediante consentimiento informado aprobado por el Comité de Ética en Investigación Clínica del Hospital Clínico San Carlos, con número de referencia C.P.-C.I. 15/313.

VII.1.2 TAMAÑO DE LA MUESTRA

Para poder determinar detalladamente el tamaño de la muestra, se necesitaba saber la variabilidad de los parámetros que se deseaban medir basándonos en los datos de estudios previos.

Revisando la bibliografía, no había estudios en los que se analizase la cantidad de RANKL y OPG en fluido crevicular en pacientes que estuviesen en tratamiento con algún tipo de vibración y con Invisalign®. Por un lado, existían artículos en el que se analizaban RANKL y OPG con alineadores pero sin vibración y con una muestra de pacientes escasa, 10 (Castroflorio T, 2017). De la misma manera, había estudios en los que se observaba la aplicación de vibración mediante Acceleident® pero se analizaba la velocidad de cierre de espacio de extracción (Miles P, 2018; Pavlin et al., 2015; DiBiase AT, 2018) o el índice de irregularidad de Little (Woodhouse NR, 2015a; Miles P, 2016; Katchooi M, 2018).

Finalmente, para realizar el cálculo del tamaño muestral nos basamos en el estudio previo de Kawasaki y cols., donde se establecieron entre los dos grupos de estudio una diferencia media en la cantidad de movimiento dentario durante las fases iniciales (168 horas) de 0,41mm, considerada clínicamente relevante. Los valores medios de RANKL durante ese periodo fueron de 70,075 pg/μl (DE: 27,6) y 40,625 pg/μl (DE: 25,5) respectivamente. Con estos datos, establecimos un tamaño del efecto de 1,108, seleccionamos una potencia del 80% y un nivel de significación del 5%. El tamaño muestral de cada grupo debía de ser de 14 sujetos. En el estudio se analizaron 15 pacientes por grupo (dos), en nuestro caso, se estudiaron 15 por cada uno de los grupos (tres) (Kawasaki K et al., 2006).

En los estudios revisados hay disparidad en cuanto a edad y sexo. Respecto a la edad, investigaciones como la de Pavlin D et al. y Kawasaki K et al., son parecidos a nuestra media de edad, estableciéndose esta en 28,8 años del grupo A, 29,93 el B y 33,73

el grupo C, aunque la desviación estándar de los estudios remarcados es mayor (Pavlin D et al., 2015; Kawasaki K et al., 2006; Katchooi M, 2018). El resto de investigaciones en humanos tienen una edad menor siendo estos en su mayoría, adolescentes (Miles P, 2016; Woodhouse NR et al., 2015b). Por otro lado, en cuanto al sexo, hay disparidad en número entre hombres y mujeres en estudios como el de Miles et al, a diferencia del presente, en el que no existe diferencias significativas en esta variable ($p=0,529$).

VII.1.3 CRITERIOS DE INCLUSIÓN Y EXCLUSIÓN

Se ha encontrado gran dificultad en cuanto a reclutar el número de pacientes determinado en el anterior apartado y en los grupos seleccionados. Esto es debido a los criterios de inclusión y exclusión y a la metodología planteada desde un inicio. Existen en la actualidad gran número de pacientes con patologías sistémicas que podrían variar la toma de muestra de fluido crevicular; por otro lado, la patología local como enfermedad periodontal en pacientes adultos. Por último, la metodología empleada en el estudio dificultó el reclutamiento de la muestra: tanto el uso de Invisalign® que no se utiliza de manera sistemática (aunque es cada vez más frecuente), como el hecho de conseguir los dispositivos de vibración Accelent Aura® para dos de los tres grupos de la investigación.

La rigurosidad que se ha llevado a cabo durante todo el proceso de selección quería eliminar la influencia de factores de confusión o sesgos que alterasen la recogida de muestra de fluido crevicular y datos disonantes en el análisis de los resultados de los mismos como por ejemplo la edad, selección de pacientes sanos, no fumadores, sin enfermedad periodontal y colaborador en higiene y uso de aparatología pues ambos dependían de la voluntad del paciente, además de no presentar implantes osteointegrados en los grupos A y B por no conocer en la actualidad los efectos posibles sobre ellos.

La edad media de la muestra ha sido $30,82 \pm 8,33$ para poder descartar así posible variabilidad que puede aportar el hueso en crecimiento. Como se ha señalado en el apartado anterior, dependiendo de los artículos revisados, esta edad se centra en adolescentes en aquéllos que analizan parámetros clínicos como la velocidad de distalamiento de caninos o índice de irregularidad e Little (Miles P, 2016, Woodhouse NR, 2015b), o incluso sin criterio de selección en este aspecto con una desviación estándar elevada de 12-40 años (Pavlin et al., 2015). En nuestra investigación, si veíamos

necesario la selección de una muestra similar respecto a la edad ya que podía influir en las variabilidades de concentración de RANKL y OPG encontrados.

Como criterios de exclusión se descartaron aquellos pacientes con enfermedad periodontal activa e incluso durante la selección, aunque estuvieran en tratamiento, no se incluyeron por posibles efectos en las concentraciones de los biomarcadores estudiados RANKL y OPG. RANKL está a menor concentración en pacientes sanos y con gingivitis que en aquéllos con enfermedad periodontal, sea cual sea, en las cuáles, se ve aumentada su concentración. OPG al contrario, tiene un nivel mayor en pacientes sanos que aquéllos con patología periodontal. Por todo ello y para evitar sesgos, se seleccionaron pacientes sin enfermedad periodontal y sin hábito tabáquico (Bostanci N et al., 2007; Chen B et al., 2014; Buduneli N et al., 2008; Bostanci N et al., 2006; Jin Q et al., 2007).

Además, fueron suprimidos aquellos con bolsas periodontales mayores de 4 mm pues podía cambiar la homeostasis ósea (Chen B et al., 2014; Jin Q et al., 2007). Si se aceptaron pacientes que hubiesen sido tratados mediante profilaxis profesional en los últimos 6 meses, ya que como se conoce en la actualidad, la gingivitis no es un factor a tener en cuenta cuando analizamos RANKL y OPG en fluido crevicular (Bostanci N et al., 2007).

Se determinó 6 meses de duración de tratamiento mínimo para poder hacer un estudio a largo plazo en comparación a los que se han realizado hasta el momento, ya que los estudios in vitro en los que se ha observado la concentración de RANKL y OPG son a corto plazo y no hay un estudio sobre la variabilidad de los mismos en un periodo mayor e in vivo (Alikhani I M, 2019; Alikhani M et al., 2018a; Dunn MD et al., 2007; Kalajzic Z et al., 2014; Alikhani M et al., 2018b; Judex S, 2018; Altan BA et al., 2012; Nakano Y et al., 2011).

Entre otros criterios de exclusión, determinamos la existencia de patologías sistémicas previas.

La Diabetes Mellitus tipo I y II, puede aumentar las concentraciones de OPG sistémico respecto a los pacientes sanos, por lo que fueron descartados de la investigación (Secchiero P et al., 2006). De forma general, lo que se ha observado es una disminución de la concentración de RANKL/OPG en tejidos duros in vitro tras provocar fracturas, motivo por el cual, al haber una variación respecto a los controles, se ha evitado dicha enfermedad (De Amorim FPLG, 2008). Además, aunque no interfiere directamente en la homeostasis ósea si lo hace de forma indirecta por enfermedades secundarias a la diabetes como la osteoporosis. Puede, además, interferir en la calcificación vascular que se produce en dicha enfermedad, poniendo en marcha el proceso inflamatorio que igualmente, aumentaría los niveles de RANKL. Aunque el efecto a este nivel, está poco estudiado por el momento (Ndip et al., 2014).

Otra de las enfermedades que son importantes en el metabolismo óseo y que fueron descartados de cara a incluirlos como participantes en la investigación, fue la epilepsia y aquellos pacientes que estuviesen en tratamiento con antiepilépticos. Estos pacientes tienen mayor osteopenia, osteoporosis, fracturas, hipocalcemia e hipovitaminosis D. La pérdida ósea metabólica se asocia a un recambio óseo acelerado con un aumento de los niveles de RANK/RANKL y una disminución de OPG respecto a controles (Hamed SA et al., 2014; Rauchenzauner M, 2010; Dahiya K et al., 2015).

Las enfermedades óseas que podían afectar a la homeostasis y su concentración en RANKL y OPG de forma directa eran la artrosis, artritis reumatoide o psoriásica u osteoporosis. La osteoporosis aumenta los niveles de RANKL y por tanto la posibilidad de desarrollar enfermedad periodontal, aumentando la destrucción ósea (Şufaru IG et al., 2016; Pilichou A et al., 2008; Crotti TN et al., 2002; Li C et al., 2011). En la artritis o

artrosis, provocada en muchos artículos mediante ovariectomía, desencadena un aumento de RANKL y la disminución de OPG que provocará un aumento de estas patologías y destrucción articular. En los estudios, aplicar OPG de forma farmacológica, previene la pérdida ósea (Hofbauer LC et al., 2001, AlikhaniI M, 2019).

A todos los pacientes se les preguntó por la ingesta crónica de fármacos en la historia clínica ya que, como es sabido, muchos de ellos entorpecen el movimiento dentario y con ello, alterarían de alguna manera la concentración de RANKL y OPG, pudiendo afectar a la investigación. Aquellos que tomaban AINES, bifosfonatos o eran tratados con difenilhidantoínas se descartaron.

Los AINES reducen el movimiento dentario por una disminución en número de los osteoclastos. Suprimen la producción de todos los prostanoideos (tromboxano, prostaciclinas y prostaglandinas) por su inhibición de la COX-1 y COX-2. Muchos AINES son utilizados de forma crónica para enfermedades como las antes mencionadas (osteoartritis, artritis reumatoide). También previenen enfermedades cardiovasculares o cáncer colonorrectal. Pero inhiben la actividad de la ciclooxigenasa, la cual convierte a los ácidos grasos insaturados de la membrana celular en prostaglandinas, interfiriendo en la homeostasis ósea (Mérida I, 2011).

De igual manera, las enfermedades tiroideas y los fármacos utilizados para tratarlas, fueron descartados de la investigación. Así y, por último, las prostaciclinas, prostaglandinas o prednisolona, crean disturbios en el metabolismo óseo y disminuyen la formación de hueso. Por este motivo la selección de pacientes fue muy rigurosa y nos abstuvimos de introducir cualquier tipo de enfermedad y tratamientos que pudiesen distorsionar la muestra (Mérida I, 2011).

VII.2 SELECCIÓN DE LA TÉCNICA

VII.2.1 RECOGIDA DE MUESTRA

Según la teoría bifásica, los osteoclastos aumentarían su actividad en la zona de compresión y tensión de igual forma tras una fuerza dada y tras provocar un traumatismo del PDL, que produce una respuesta generalizada del mismo. Así mismo, como ya se ha detallado, habría una fase catabólica y anabólica en el ligamento periodontal, aunque estas no ocurrirían de forma simultánea sino que primero habría una fase catabólica, como muestra un aumento de los marcadores de los osteoclastos, seguida de una fase anabólica que regenera todo el tejido reabsorbido del diente (Alikhani, 2017a).

Para la recogida de muestras de fluido crevicular el estudio, por tanto, nos hemos basado en el estudio de Barbieri G. et al. (2013), en el que se corroboró que las zonas de compresión y tensión entrarían en un concepto de circuito cerrado igualando las partes y afirmando la teoría bifásica, ya que no obtuvieron diferencias significativas entre ambos lados.

El fluido crevicular es un exudado inflamatorio del surco gingival que aumenta su volumen cuando hay inflamación y aumenta su capilaridad y permeabilidad. Por este motivo, se decidió tomar con puntas de papel muestras del fluido crevicular en la zona de presión de los dientes seleccionados en el Clincheck® de cada paciente. No se obtuvo el volumen de las muestras con Periotron 8000 (Harco) por falta de disponibilidad del mismo entre los pacientes tratados en las distintas clínicas, pero con las puntas de papel sí que se obtuvo la concentración de proteínas totales en cada paciente en cada una de sus muestras y se controló la duración de la toma de muestra (30 segundos) de cada uno de ellos. La metodología de recogida de muestra también fue similar durante todo el estudio.

Se aisló con rollos de algodón previa retirada de placa y secado ligero de la superficie dental del diente experimental. A continuación, se introdujo la punta de papel 30 segundos y se conservó en el congelador a -80°C hasta su estudio con el kit de inmunohistoquímica ELISA (Barbieri G et al., 2013).

Esta metodología fue similar en el estudio de Leethanakula C et al. (2016), en el que utilizaron también puntas de papel y cuyo volumen lo calcularon pesando la punta antes y después de insertarla en el surco gingival. No consideramos esta metodología por posibles errores en la calibración del peso que pudiera cambiar los resultados obtenidos en la investigación. Además, no obtuvieron diferencias significativas de volumen entre los dientes experimentales y controles, no considerando como crítico el volumen a modo de biomarcador de remodelado tisular durante el tratamiento de ortodoncia, al igual que Drummond S et al. (2011) Algo que se contradice con la afirmación anterior de que, ante la presencia de inflamación, aumenta el volumen de fluido crevicular en el surco gingival. Por otro lado, al descartar pacientes con enfermedad periodontal, eliminamos un factor que puede alterar el volumen de fluido, ya que pacientes periodontales presentan volúmenes mayores que pacientes sanos (Bostanci N et al., 2007).

Por último, en cuanto al momento de la toma de muestra, de forma clásica se ha recogido a las 24-48 horas, a las 2 semanas, 5 y 8 semanas (Flórez-Moreno G et al., 2013). En otros estudios, la recogida se ha centrado en los primeros días del tratamiento de ortodoncia por ser RANKL y OPG indicadores primarios de movimiento dentario (Barbieri G et al., 2013). En nuestra investigación decidimos evitar tomar la muestra a las 24-48 horas ya que, aunque corresponde a la primera fase de movimiento dentario, Florez-Moreno G et al. (2013) no encontraron una concentración de RANKL expresado en saliva. Tomamos la muestra a las 4 semanas, que correspondería a la segunda fase de movimiento dentario (de los 4-20 días) y a las 6 semanas que correspondería con la última

fase o de reversa (40 días). La toma de las 12 semanas se introdujo para saber la respuesta ósea a la vibración una vez había sido instaurado el movimiento (grupo B) y replicar las 6 semanas iniciales que había tenido el grupo A la vibración. A las 18 semanas, se tomó en los tres grupos para observar la evolución de los biomarcadores sin introducir ningún factor externo que pudiese alterar su respuesta.

VII.2.2 TÉCNICA DE LABORATORIO. ANÁLISIS BIOQUÍMICO

Se utilizó la técnica de inmunohistoquímica ELISA (Enzyme-Linked Immuno Sorbent Assay: ensayo por inmunoabsorción ligado a enzimas), técnica desarrollada por Peter Perlmann y Eva Engvall en la Universidad de Estocolmo, Suecia. En 1960, el Dr. Roger Ekins publicó el análisis de saturación para estimar la tiroxina en plasma humano y en 1968, Miles y Hales la técnica “inmuno-radiométrica” con anticuerpos marcados radioactivos en lugar del antígeno para medir la insulina en plasma humano. Estas técnicas podrían emitir radiación, por lo que fue evolucionando hasta como es conocida hoy en día (Lequin RM, 2005).

A través de ELISA, un antígeno se detecta mediante un anticuerpo unido a una enzima que provoca un producto detectable mediante espectrofotometría, es decir, color. En la actualidad, las placas de ELISA tienen hasta 96 pocillos tratados, en los que hay un antígeno/anticuerpo que tiene afinidad por el sustrato que añadimos para analizar las muestras.

En nuestro caso se utilizaron Kits de ELISA para RANKL soluble de Mybiosource® (MBS167766-96) con sensibilidad de 0,28 ng/l (0,00028 ng/ml) y para OPG de Elabscience® (E-EL-H1341-96T) con una sensibilidad de 0,10 ng/ml. Al inicio del análisis, se realizó una prueba con otro Kit de RANKL de Elabscience® con una

sensibilidad de 1,95 pg/ml, pero los valores de RANKL eran muy bajos, incluso menores que la curva patrón, por lo que se decidió seleccionar otro Kit con mayor sensibilidad para RANKL soluble.

Según Barbieri G et al. (2013) RANKL, RANK y OPG son moléculas que se expresan en bajos niveles y por tanto son necesarios métodos con alta sensibilidad para detallar las concentraciones de las mismas. Por ello, utilizaron un kit de ELISA tipo sandwich con una sensibilidad ≤ 1 pg/ μ l. Aun siendo mas la sensibilidad reportada por los kits seleccionados y utilizando la misma muestra para determinar OPG y RANKL, se observó que los niveles de RANKL eran mucho menores que los de OPG. Esto puede deberse al uso de diferentes marcas de los kits, aunque como no se ha analizado volumen, solo tendencia del crecimiento o no de los niveles de las moléculas, no se ha dado importancia a dichos hallazgos.

Por otro lado, como en el resto de investigaciones sobre fluido crevicular, se ha analizado RANKL soluble, expresado por las células T activas, pues el RANKL transmembrana a través de fluido crevicular no se puede determinar (Tabari Z et al., 2013). Esto ocurriría en hueso y tejido linfático, es decir en situaciones fisiológicas.

VII.3 RESULTADOS INTRAGRUPO

La remodelación ósea, como se ha estudiado previamente, es un balance entre RANK-RANKL y la activación de OPG. Además, la vía de señalización de RANK es crucial para diferenciar y activar osteoclastos. La osteoprotegerina (OPG) es expresada en células osteoblásticas, así como el RANKL. La unión de RANKL a RANK promueve la activación de los osteoclastos, la unión de OPG a RANKL inhibe dicha activación.

(Castroflorio T et al. 2017; Tyrovola et al., 2008; Huang H et al., 2014; Henneman S et al., 2008).

El aumento de RANKL y disminución de OPG en fluido crevicular tras aplicar una fuerza es tiempo y fuerza dependiente (Castroflorio T et al., 2017). Aunque en ningún caso nos dieron resultados estadísticamente significativos, si observamos una tendencia en los datos observados, de forma que en la zona de compresión donde adquirimos las muestras de fluido crevicular, hubo un aumento de RANKL y una disminución de la concentración en picogramos de OPG en determinados momentos de tiempo, asociado al uso o no uso de Acceledent®, lo que llevaría a afirmar que el uso de este tipo de aparatología podría provocar un cambio en la homeostasis ósea.

En el grupo A, se observó en los resultados cómo durante las 6 semanas en las que los pacientes usaron Acceledent®, fueron incrementando las concentraciones de RANKL y como tras cesar en su uso, esas concentraciones disminuyeron. En cuanto a OPG, estas concentraciones disminuyeron durante las 18 semanas de duración del estudio.

Estos resultados concuerdan con los obtenidos por Judex S et al. (2018) in vitro, en el que, aunque no obtuvieron resultados estadísticamente significativos, si se observó una respuesta mayor respecto al control a nivel celular (osteoblastos, fibroblastos del ligamento periodontal y osteoclastos) y molecular a través de marcadores de diferenciación osteogénica, osteoblastos, fibroblastos y de osteoclastos, entre los que se encuentra RANK, con el uso de Acceledent®, a los 3 días de utilizar mismo. De igual forma, in vivo, solo con el uso de aparatología mediante alineadores, Castroflorio T et al. (2016) obtuvieron una mayor concentración de RANKL y disminución de OPG tras una hora y a la semana de haber introducido una fuerza de ortodoncia con el alineador a través del distalamiento secuencial del molar y analizando el fluido crevicular.

Como se observó en diferentes estudios, la respuesta es tiempo y fuerza dependiente. Barbieri G et al. (2013) describieron un aumento de concentración de RANK al día de introducir la fuerza, pero no a los 7 días, concluyendo que RANK podría ser un marcador inicial de recambio óseo. Este rol del sistema RANK/RANKL/OPG en los estadios iniciales del tratamiento de ortodoncia fue avalado por Castroflorio T et al. (2016) aunque ambos estudios se realizaron con un tamaño pequeño de muestra.

Sin embargo, estudios como el de Alikhani M et al. (2018), en la sutura medio palatina de ratas, observan que este aumento de RANKL y disminución de OPG se obtuvo en los días 3,7 y hasta 14, no obteniendo diferencias significativas a los 28 días de haber iniciado el estudio.

Por último, Florez-Moreno G et al. (2012), estudiaron la concentración de RANKL y OPG en fluido crevicular a nivel basal, a las 24-48 horas y a las 2, 5 y 8 semanas. Aunque no se introduce un factor adicional como la vibración, sí que existe un aumento de concentración hasta las 8 semanas de RANKL y una disminución de OPG. Estos resultados avalarían los nuestros ya que obtuvimos un aumento gradual de la concentración de RANKL y disminución de OPG con el uso de vibración. Podríamos afirmar que al ampliar el tiempo de estudio respecto a los anteriormente citados, vemos como hay picos en los que las concentraciones aumentan o disminuyen y, como los resultados anteriores, podrían deberse a un tamaño de muestra pequeño o un periodo de tiempo corto respecto a estos.

En segundo lugar, en el grupo B, en el que la vibración se introdujo a las 6 semanas de haber comenzado con el tratamiento de ortodoncia mediante Invisalign®, y cuya duración fue de 6 semanas hasta la semana 12 de tratamiento, se observó cómo, de igual forma, aunque sin resultados estadísticamente significativos, Acceledent® produjo un aumento de la concentración de RANKL, aunque no mayor del que se había producido

sin vibración en las primeras 4 semanas. De igual forma, Florez-Moreno G et al. (2012) encuentran una variación en estadios iniciales sin uso de vibración de aumento a las 2 semanas de comenzar con el tratamiento y bajada a las 5 semanas (en nuestro caso fue a las 6 semanas por metodología de toma de recogida de muestras de fluido crevicular), volviendo a aumentar en su caso, en la semana 8. Esta disminución de la concentración de RANKL de la semana 4 a la 6 sin uso de vibración, cambiando los alineadores cada 14 días, se puede deber a la unión, en esta fase de movimiento, a RANK de forma que encontramos menor concentración de RANKL en fluido crevicular. Por otro lado, podría estar relacionado con la teoría clásica en la que ante una fuerza ligera, hay una obliteración parcial de los vasos sanguíneos que permite el paso celular necesario para promover la reabsorción (reabsorción ósea directa). Cuando se excede la magnitud de la fuerza, se produce una obstrucción total de los vasos que solo permite la llegada a distancia de las células para promover el mismo proceso, restaurando la zona que se ha necrosado o hialinizado (reabsorción ósea indirecta). Aunque en este contexto no se podría hablar de magnitud de fuerza, pues es similar entre alineadores y grupos, si de tiempo de uso de cada alineador, lo que se podría relacionar en el caso del grupo B, con la reabsorción ósea directa al mantener mas tiempo los alineadores en esta fase y en el grupo C, con la reabsorción ósea indirecta, en el que el cambio semanal provocaría una hialinización y necesidad de aumentar RANKL para reparar las zonas afectas (Chaqués Asensi J, 1998,a).

En cambio, observamos un aumento progresivo de OPG en el grupo B que disminuye de forma abrupta tras el uso de vibración. Este aumento puede deberse a un cambio más lento de los alineadores respecto al grupo A y a la no utilización de vibración desde el inicio, que proporcionaría más tiempo para que la fase anabólica se expresase (Alikhani M et al., 2018a). De igual forma, si observamos la concentración de OPG del grupo A respecto al B, el uso de vibración una vez instaurado el movimiento como ocurre

en el B, parece tener un efecto anabólico mayor. Esto se contradice respecto a los hallazgos de Alikhani M et al. (2018), en el que afirmaron que la vibración tendría un efecto anabólico en condiciones fisiológicas (dientes sin movimiento y por tanto sin inflamación) y no en condiciones patológicas (dientes en movimiento). Sin embargo, varios autores muestran cómo con el uso de 30 Hz de vibración, el efecto podría ser más anabólico que catabólico por un mayor incremento de OPG en fases donde debería decrecer (Yadav S et al., 2016). Esto puede deberse a los diferentes momentos en los que aplicamos la vibración y como ya se ha detallado, al uso más dilatado de los alineadores al inicio del tratamiento.

En el grupo C, en el que no se introduce vibración, pero si se modifica la frecuencia del cambio de alineador las primeras 12 semanas (cada 7 días y no cada 14), cambiando de la semana 12 a la 18 a una frecuencia de 14 días, se observó como la concentración de RANKL aumentó y se mantuvo de la semana 4-12 y disminuyó cuando el cambio de alineador fue cada 14 días. OPG sin embargo, disminuyó con el cambio semanal de alineador aunque aumentó cuando los pacientes se cambiaban de alineador cada 14 días al igual que en el grupo B al inicio del tratamiento, con las mismas condiciones. En este periodo, es el único grupo en el que aumenta la concentración de OPG al no utilizar durante el tratamiento el dispositivo de vibración.

Se puede ver como el cambio de alineadores cada 7 días junto al uso de vibración, si aumenta los niveles de RANKL en el grupo A y B y en el C, sin AcceleDent®. OPG sin embargo, disminuye con el uso de AcceleDent® desde el inicio ocurriendo lo contrario una vez se encuentra instaurado el movimiento.

VII.4 RESULTADOS INTERGRUPO

En las primeras cuatro semanas de tratamiento, se observa que la concentración de RANKL es mayor en el grupo A, en el que utilizaban Acceleident® desde el inicio, respecto al B en el que no utilizaban dicha aparatología pero cambiaban los alineadores cada 14 días y ésta mayor que el C, que comenzaba desde el inicio con cambio semanal de alineador. Esto lleva a pensar que para promover la osteoclastogénesis, lo ideal es iniciar con vibración desde el inicio del tratamiento y en caso de no utilizarla, las primeras cuatro semanas, cambiar los alineadores cada 14 días.

De las 4-6 semanas, el grupo A es el que mayor concentración de RANKL posee, pero en la gráfica el que menor concentración presenta es el grupo B, por lo que tras iniciar el movimiento de ortodoncia y tras 4 semanas, si no se utilizase ningún dispositivo de aceleración, podríamos comenzar a cambiar los alineadores de forma semanal, ya que está instaurado el movimiento y favorecería, según lo encontrado, a aumentar los niveles de RANKL.

Como se ha comentado en el apartado intragrupo, esto podría deberse por un lado a la unión de RANK a RANKL en esta fase sin uso de vibración, lo que disminuiría la concentración en el grupo B respecto al C debido al cambio de alineador cada 14 días. Por otro lado, podría estar relacionado con la teoría clásica como se ha detallado, pues a mayor tiempo de uso de alineador, en este caso el grupo B, mas posibilidades de permitir una reabsorción ósea directa respecto al C en el que habría una hialinización por cambio semanal de alineador y un aumento en este grupo de RANKL para promover la reabsorción del tejido necrótico.

Respecto a OPG en estos periodos de tiempo, el que menor concentración presenta es el grupo A de manera inversamente proporcional a la concentración de RANKL en

este mismo grupo. El grupo B, en el que no se utilizó vibración ocuparía el segundo lugar y el C, el tercero. Esta variación de grupo B y C en el que teóricamente el grupo C tendría que tener mayor concentración de OPG y es a la inversa, podría deberse al uso de un ritmo más lento de los alineadores en el grupo B, que facilitaría el comienzo anticipado de la formación ósea por un mayor uso de los alineadores en el tiempo. Además, según Simon M et al. (2014), independientemente del movimiento de cada alineador, hay un desgaste gradual del mismo que disminuye la fuerza aplicada y por tanto, podría favorecer el aumento de OPG.

De nuevo, estos resultados concuerdan con los obtenidos por Judex S et al. (2018) *in vitro*, en el que había un aumento celular y molecular tras aplicar vibración mediante Acceledent® en los 3 días de duración del estudio. No hay estudios en los que se combine vibración, alineadores y respuesta biológica mediante marcadores, por lo que es complicado refutar los resultados. Además, los momentos de registros varían, centrándose en su mayoría en los primeros 28 días de tratamiento (Flórez-Moreno G et al., 2013). Sin embargo, solo el aplicar una fuerza de ortodoncia, parece aumentar el valor de RANKL y disminución de OPG en fluido crevicular tanto si se aplica vibración en nuestro caso, como si no, como ocurre en otros estudios (Barbieri G et al., 2013; Flórez-Moreno G et al., 2013).

Si observamos las 18 semanas de duración del estudio, podíamos determinar que el uso de vibración favorecía el aumento de concentración de RANKL, ya que el grupo con mayores índices de ésta molécula es en el grupo A, le sigue el B y por último el C. Llegando a la misma conclusión que inicialmente, en el que observábamos cómo el uso de Acceledent® desde el inicio, muestra un componente positivo en el proceso de osteoclastogénesis, siempre detallando que los resultados no fueron estadísticamente

significativos. Los niveles de concentración de OPG muestran una gráfica contraria a RANKL, siendo el de menor cantidad, el grupo A y el de mayor, el C.

Otro intervalo estudiado fue entre la semana 4 y la 18 (T4-T1) en el que se observó como en el grupo B era en el que mas disminuía la concentración de OPG, coincidiendo con el periodo de estudio en este grupo, de Acceledent®. El grupo C, fue en el que mas concentración se consiguió sin uso de vibración durante todo el periodo, por lo que se favorecería la formación ósea sin uso de vibración.

Por último, de la semana 6 a la 18, el grupo con mayor concentración de RANKL, fue el B, grupo en el que en este periodo utilizaron vibración, respecto al C en el que 6 de las 12 semanas en este rango cambiaron los alineadores cada 7 días y el que menor concentración mostró es el A, que en este periodo cambiaban los alineadores cada 14 días. Esto llevaría de igual forma a pensar, que tras las primeras 4 semanas en el que el cambio sin usar Acceledent®, debería ser cada 14 días, tras este periodo, el cambio que favorece la osteoclastogénesis es cada 7 (observar grupo A y C). En este tiempo, en el que menor concentración hubo de OPG fue en el grupo B, coincidiendo con todo lo anteriormente expuesto.

No se obtuvieron diferencias significativas respecto al índice de placa, gingival y sangrado al sondaje que pudiera haber interferido de alguna forma en la toma de registros. Además, como aconsejaban Barbieri G et al. (2013), se analizó en este proceso un diente control que según el ClinCheck® no se movía, para distinguir la patología inflamatoria producida por el movimiento, de la inflamación per se por higiene deficiente del paciente. Solo el índice gingival del grupo C en los dientes experimentales, obtuvieron una $P=0,006$, al igual que en este grupo respecto al índice de placa de todos los registros anotados ($P=0,007$). No se obtuvieron diferencias estadísticamente significativas en los índices analizados intergrupo.

VII.5 OTRAS CONSIDERACIONES Y LIMITACIONES

En el estudio realizado, no hemos tenido en cuenta el tipo de maloclusión, ya que no era objeto del mismo. Hemos considerado que al estar realizando movimientos dentarios individuales de una magnitud fija y conocida en el mismo sextante, determinada por el cambio de alineador, esto no era un factor crítico a la hora de contrastar los resultados. Los dientes seleccionados tenían desde el inicio un movimiento de vestibulización o lingualización. Aunque la selección de los dientes experimentales en su mayoría fueron de 32-42, en alguno de los sujetos (6) para obtener el movimiento buscado, fueron 11 y 21. Esto podría ser una de las limitaciones del estudio ya que la magnitud de fuerza aplicada respecto a los inferiores puede ser variable además de existir diferencias anatómicas y embriológicas entre el hueso maxilar y el mandibular (Simon M et al., 2014).

Por otro lado, existe un punto de saturación biológica por encima del cual el aumento de la magnitud de la fuerza de ortodoncia no aumentaría el nivel de los marcadores inflamatorios (Alikhani M, 2018b, Alikhani M., 2014). Este punto aumenta tras la aplicación de vibración, por efecto directo en el ligamento periodontal en ratas (Alikhani M et al., 2014). Se ha observado in vitro, que la vibración podría tener un efecto anabólico en tejidos en salud o en fase de reparación como podría ser la fase de retención de ortodoncia, mientras que el efecto catabólico sería por efecto de aplicación de una fuerza y una posterior reacción inflamatoria (Alikhani M et al., 2018b; AlikhaniI M 2019). Además, durante el tratamiento de ortodoncia, la fase anabólica comenzaría a la mitad de la fase catabólica y no desde el momento de aplicar la fuerza según este mismo autor. Todo esto nos lleva a pensar según nuestros resultados, que la vibración posee un efecto sobre los marcadores inflamatorios que permiten pasar ese umbral y que no solo la vibración, sino el cambio de alineador cada 7 días con Invisalign®, no con ortodoncia fija

convencional, permitiría una vez instaurado el movimiento, es decir a las 4 semanas desde el inicio del movimiento dentario, mejorar la osteoclastogénesis ya que los alineadores poseen un desgaste y disminución de magnitud de fuerza con el paso de los días como afirma Simon M et al. (2014).

En la investigación, se ha utilizado Acceleident® como variable para producir un efecto en el metabolismo óseo. No se han encontrado diferencias estadísticamente significativas aunque si hemos podido observar una tendencia de los datos. Existen en el mercado dos tipos de dispositivos de vibración que podrían afectar de diferente manera al hueso, por un lado el estudiado usado 20 minutos al día, y por otro, VPro5® con una frecuencia de 120 Hz, el cual el paciente utiliza durante 5 minutos diarios. Existen por tanto diferentes protocolos de vibración de los que hay que tener en cuenta la frecuencia-Hz-, la magnitud- $1g=9,81m/s^2$ y el total de desplazamiento conseguido- μm , mm o cm para producir una variación en el ligamento periodontal. In vitro, se ha observado una mayor respuesta celular a nivel de fibroblastos y osteoblastos mediante VPro5® además de ver como en este dispositivo prevalecen los movimientos horizontales respecto a Acceleident®, lo que favorecería la activación celular, pero no se han observado diferencias en la activación de osteoclastos. Estos hallazgos no se pueden extrapolar a estudios in vivo, pero si es conocido que suele haber una respuesta mayor a altas frecuencias (>60 Hz) que a frecuencias menores (<40 Hz) (Judex S, 2018). Por tanto, aunque no se han encontrado diferencias significativas y probablemente una frecuencia mayor pueda arrojar diferentes resultados, sí se pueden observar cambios en la homeostasis ósea y en la actividad osteoclástica.

Se han revisado otros estudios a nivel clínico en los que no se han observado diferencias estadísticamente significativas como es el metaanálisis de Miles P et al. (2018), pero la mayoría se refieren al tiempo que se tarda en el distalamiento de caninos

tras exodoncia de un premolar o alineamiento anteroinferior in vitro e in vivo, no mostrando resultados moleculares.

En un metaanálisis realizado por El-Angbawi, se observa como de 323 artículos relacionados con vibración y movimiento dentario, solo se seleccionaron dos (Miles P et al., 2012; Pavlin D et al., 2015) por ser aquéllos con diseño similar y menor riesgo de sesgo (El-Anggawi A et al., 2015). Aun así, concluyen que no existen diferencias significativas entre grupos. Son dos estudios in vivo, el primero de ellos se centra en la alineación anteroinferior mediante el índice de irregularidad de Little y el segundo, en la velocidad de distalamiento del canino tras exodoncia del primer premolar. En ninguno de los estudios se evaluó la influencia sobre la duración total del tratamiento, centrándose solo en etapas iniciales del mismo y difiriendo el movimiento dentario en diferentes momentos del tratamiento como ha sido estudiado (El-Anggawi A et al., 2015). En otra de las revisiones analizadas de 2018 (Aljabaa A et al., 2018), se seleccionaron cinco estudios de los cuales en cuatro, no encontraron diferencias estadísticamente significativas en el aumento de velocidad de movimiento dentario tras uso de Acceledent® (Aljabaa A et al., 2018).

Para finalizar, tenemos que tener en cuenta la diversidad de diseños y protocolos de estudio que dificultan el contraste de los resultados y que suponen limitaciones a la hora de llegar a unas conclusiones claras. Además, se debería unificar criterios como la vibración utilizada in vivo, el tamaño muestral seleccionado y los momentos de toma de registro, pudiendo para futuras investigaciones, ser menores en las etapas iniciales y dejando periodos mas largos a partir del tercer mes. Sería conveniente además, tomar registros de fluido crevicular finales e incluso al mes tras acabar el tratamiento para evaluar la evolución de la concentración de los biomarcadores. Al utilizar alineadores, se podría en futuras investigaciones, observar la posible mejor adaptación de los mismos

con el uso de vibración y la percepción del dolor con este tipo de aparatología, aunando así los objetivos que de forma independiente se han ido investigando en los últimos años. Por último, se debería estudiar el efecto periodontal de la vibración in vivo tanto en pacientes sanos que hayan utilizado dicha aparatología, como en los pacientes que poseen, per se, enfermedad periodontal.

VIII. CONCLUSIONES

A la vista de los resultados obtenidos, y tras el análisis de los mismos, podemos formular las siguientes conclusiones:

1. Aplicar una fuerza intermitente vibratoria mediante Acceldent®, no aumenta de manera estadísticamente significativa los niveles de RANKL y OPG en fluido crevicular en pacientes con tratamiento de ortodoncia mediante Invisalign®.

2. Aun sin encontrar diferencias significativas, la tendencia de RANKL es a aumentar cuando se utiliza Acceldent® y disminuir la concentración de OPG.

3. El uso de vibración desde el inicio del tratamiento, aumenta más los niveles de RANKL que una vez instaurado el movimiento. De igual forma ocurre con OPG, la cual es la menor de todos los grupos si se comienza desde el inicio el uso de vibración.

4. Sin el uso de dispositivos de vibración, es mas favorable a la osteoclastogénesis el cambio de alineadores cada 14 días las primeras 4 semanas desde el inicio del tratamiento mediante Invisalign® que cada 7 días. A partir de las 4 semanas, el cambio semanal favorecería el mantenimiento de los niveles de concentración de RANKL.

5. Los niveles de OPG son mayores con el cambio de alineador cada 14 días y en las primeras 6 semanas de movimiento sin vibración, porque hay más tiempo para que se de comienzo a la aposición ósea. El uso de vibración hace que los niveles de OPG disminuyan favoreciendo la osteoclastogénesis.

IX. BIBLIOGRAFÍA

- Ali Darendeliler M, Zea A, Shen G. & Zoellner H. 2007. Effects of pulsed electromagnetic field vibration on tooth movement induced by magnetic and mechanical forces: a preliminary study. *Australian Dental Journal*, 52, 282-287.
- Alikhani M. 2017a. Biphasic Theory and the Biology of Tooth Movement. In: ALIKHANI, M. (ed.) *Clinical Guide to Accelerated Orthodontic*. Harvard School of Dental Medicine.
- Alikhani M. 2017b. Different Method of Accelerating Tooth Movement. In: ALIKHANI, M. (ed.) *Clinical Guide to Accelerated Orthodontics*. Harvard School of Dental Medicine.
- Alikhani M, Alansari S., Al Jearah MM, Gadhavi N, Hamidaddin MA, Shembesh FA, Sangsuwon C, Nervina JM, Teixeira CC 2018a. Osteoclasts: the biological knife in sutural responses to mechanical stimulation. *Innovation*, 1, 1-15.
- Alikhani M, Alansari S., Hamidaddin MA, Sangsuwon C, Alyami B, Thirumoorthy ST, OLIVEIRA SM, NERVINA JM, TEIXEIR C 2018b. Vibration paradox in orthodontics: Anabolic and catabolic effects. *PLOS ONE*, 13, 1-18.
- Alikhani M, Lopez J, Alabdullah H, Vongthongleur T, Sansuwon C, Alikhani M, Alansari S, Oliveira S, Nervina J & Teixeira C. 2016. High-Frequency Acceleration: Therapeutic Tool to Preserve Bone following Tooth Extractions. *Journal of Dental Research*, 95, 311-318.
- Alikhani M, Alyami B., Lee IS, Amoammar S, Vongthongleur T, Alansari S, Sangsuwon C, Chou MY, Khoo E, Boskey A, Teixeira CC 2014. Saturation of the biological response to orthodontic forces and its effect on the rate of tooth movement. *Orthodontic and Craniofacial Res*, 8, 8-17.
- Alikhani N, Raptis M, Zoldan B, Sangsuwon C, Lee YB, Alyami B, Corpodian C, Barrera LM, Alansari S, Khoo E, Teixeira C. 2013. Effect of micro-osteoperforations on the rate of tooth movement. *AJO-DO*, 144, 639-648.
- Alikhani M, Alikhani M., Alansari S., Almansour A., Hamidaddin Ma, Khoo E, Lopez JA, Nervina JM, Nho JY, Oliveira SM, Sangsuwon C, Teixeira CC 2019. Therapeutic effect of localized vibration on alveolar bone of osteoporotic rats. *PLOS ONE*, 14, 1-23.
- Aljabaa A, Almoammar K., Aldrees A, Huang G 2018. Effects of vibrational devices on orthodontic tooth movement: A systematic review. *AJO-DO*, 154, 768-779.
- Aljabaa A, Almoammar K, Aldrees A, Huang G. 2018. Effects of vibrational devices on orthodontic tooth movement: A systematic review. *AJO-DO*, 154, 768-779.
- Almeida-Lopes L, Rigau J, Zangaro RA, Guidugli-Neto J. & Jaeger MM. 2001. Comparison of the low level laser therapy effects on cultured human gingival fibroblasts proliferation using different irradiance and same fluence. *Lasers Surg. Med.*, 29, 179-184.

- Altan BA, Sokucu O, Ozkut MM, Inan S. 2012. Metrical and histological investigation of the effects of low-level laser therapy on orthodontic tooth movement. *Lasers Med Sci* 27, 131–140.
- Amit G, Jps K, Pankaj B, Suchinder S. & Parul B. 2012. Periodontally accelerated osteogenic orthodontic (PAOO)-a review. *Journal of Clinical and Experimental Dentistry*, 4, 292-296.
- Angle E. 1907. Treatment of malocclusion of the teeth, Philadelphia, White Dental Manufacturing Company.
- Barbieri G, Solano P, Alarcón J, Vernal R, Rios-Lugo J, Sanz M & Martín C. 2013. Biochemical markers of bone metabolism in gingival crevicular fluid during early orthodontic tooth movement. *Angle Orthodontist*, 83, 63-69.
- Bostanci N, Ilgenli T, Emingil G, Afacan B, Han B, Töz H, Berdeli A, Atilla G, Mckay II, Hughes FJ, Belibasakis GN. 2006. Differential expression of receptor activator of nuclear factor- κ B ligand and osteoprotegerin mRNA in periodontal diseases. *Journal of Periodontal Research*, 42, 287–293.
- Bostanci N, Ilgenli T, Emingil G, Afacan B, Han B, Töz H, Atilla G, Hughes FJ, Belibasakis GN. 2007. Gingival crevicular fluid levels of RANKL and OPG in periodontal diseases: implications of their relative ratio. *Journal of Clinical Periodontology*, 34, 370-376.
- Braga Rego E, Inubushi T, Kawazoe A, Tanimoto K, Miyauchi M, Takata T & Tanne K. 2010. Ultrasound Stimulation Induces PGE2 Synthesis promoting cementoblastic differentiation through EP2/EP4 Receptor Pathway. *Ultrasound in Medicine and Biology*, 36, 907-915.
- Buduneli N, Biyikoglu B, Sherrabeh S, Lappin DF. 2008. Saliva concentrations of RANKL and osteoprotegerin in smoker versus non-smoker chronic periodontitis patients. *Journal of Clinical Periodontology*, 35, 846-852.
- Burger E, Klein-Nulend J, Semeins CM, Nijweide PJ. 1996. Effects of fluid flow on bone cells in vitro. In: DAVIDOVITCH, Z., NORTON, LA (ed.) *Biological mechanisms of tooth movement and craniofacial adaptation*. 1° Ed ed. Boston.
- Buschang P, Campbell P & Ruso S. 2012. Accelerating Tooth Movement With Corticotomies: Is It Possible and Desirable? *Seminars in Orthodontics*, 18, 286-294.
- Cano J, Campo J, Bonilla E & Colmenero C. 2012. Corticotomy-assisted orthodontics. *Journal of Clinical and Experimental Dentistry*, 4, 54-59.
- Castroflorio T, Gambero EF, Cavigliac GP, Deregibus A. 2017. Biochemical markers of bone metabolism during early orthodontic tooth movement with aligners. *Angle Orthodontist*, 87, 74-81.

- Cohen G, Campbell P, Rossouw P & Buschang P. 2010. Effects of increased surgical trauma on rates of tooth movement and apical root resorption in foxhound dogs. *Orthod Craniofac Res*, 13, 179-190.
- Crotti TN, Smith MD, Weedon H, Ahern MJ, Findlay DM, Kraan M, Tak PP, Haynes DR. 2002. Receptor activator NF- κ B ligand (RANKL) expression in synovial tissue from patients with rheumatoid arthritis, spondyloarthropathy, osteoarthritis, and from normal patients: semiquantitative and quantitative analysis. *Ann Rheum Dis*, 61, 1047–1054.
- Chaqués Asensi J. 1998a. Biología del movimiento dentario. Teoría clásica y principios generales (I). *Ortodoncia Española*, 38/2, 105/110.
- Chaqués Asensi J. 1998b. Biología del movimiento dentario. Fenómenos biomecánicos y bioeléctricos (II). *Ortodoncia Española*, 38/3, 168-173.
- Chaqués Asensi J. 1998c. Biología del movimiento dentario. Fuerza ortodóncica y respuesta bioquímica (III). *Ortodoncia Española*, 38/4, 215-221.
- Chaqués Asensi J. 1999. Biología del movimiento dentario. Dinámica celular en la reabsorción ósea. Mecanismos reguladores (IV). *Ortodoncia Española*, 39/1, 47-55.
- Chen AC, Arany PR, Huang YY, Tomkinson EM, Sharma SK, Kharwal GG, Saleem T, Mooney D, Yull FE, Blackwell TS & Hamblin MR. 2011. Low-level laser therapy activates NF- κ B via generation of reactive oxygen species in mouse embryonic fibroblasts. *PLoS One*, e22453.
- Chen B, Wu W, Sun W, Zhang Q, Yan F, Xiao Y. 2014. RANKL Expression in Periodontal Disease: Where Does RANKL Come from? *BioMed Research International*, 1-7.
- Chouinard MC. 2016. Biomarkers of Orthodontic Tooth Movement with Fixed Appliances and Vibration Device: A Randomized Clinical Trial.
- Chung H, Dai T, Sharm Sk, Huang YY, Carroll JD & Hamblin MR. 2012. Nuts and bolts of low-level laser (light) therapy. *Ann. Biomed. Eng.*, 40, 516-533.
- D'Apuzzo F, Cappabianca S, Ciavarella D & Monsurró A. 2013. Biomarkers of Periodontal Tissue Remodeling during Orthodontic Tooth Movement in Mice and Men: Overview and Clinical Relevance. *The Scientific World Journal*, 8.
- Dahiya K, Bansal A., Dabla S, Dhankhar R, Singh V, Kumar HD, Dalal D. 2015. Bone mineral density and urinary hydroxyproline are already abnormal in newly diagnosed patients with epilepsy in this North Indian study. *Neurology Asia*, 20, 229-233.
- Davidovitch Z, Shanfeld JL, Montgomery PC, Korostoff E. 1984. Biochemical mediators of mechanical forces and electric currents on mineralized tissues. *Calcif Tissue Int*, 36, 86.

- De Amorim FPLG, Ornelas SS, Diniz SF, Batista AC, Da Silva TA. 2008. Imbalance of RANK, RANKL and OPG expression during tibial fracture repair in diabetic rats. *J Mol Hist* 39, 401-408.
- Deguchi T, Takano-Yamamoto T, Yabuuchi T & Ando R. 2008. Histomorphometric evaluation of alveolar bone turnover between the maxilla and the mandible during experimental tooth movement in dogs. *American Journal of Orthodontics and Dentofacial Orthopedics*, 133, 889-897.
- Dibiase AT, Woodhouse NR, Papageorgiou SN, Johnson N, Slipper C, Grant J, Alsaleh M, Khaja Y, Cobourne MT. 2018. Effects of supplemental vibration force on space closure, treatment duration, and occlusal outcome: a multicenter randomized clinical trial. *Am J Orthod Dentofacial and Orthop*, 153, 469-80.
- Dunn MD, Park CH, Kostenuik PJ, Kapila S, Giannobile WV. 2007. Local delivery of osteoprotegerin inhibits mechanically mediated bone modeling in orthodontic tooth movement. *Bone*, 41, 446-455.
- Ekizer A, Uysal T, Güray E, Yüksel Y. 2012. Light-emitting diode photobiomodulation: effect on bone formation in orthopedically expanded suture in rats—early bone changes. *Lasers Med Sci*, 28, 7.
- El-Angbawi A, McIntyre G, Fleming P & Bearn D. 2015. Non-surgical adjunctive interventions for accelerating tooth movement in patients undergoing fixed orthodontic treatment. *Cochrane Database of Systematic Reviews*, CD010887, 1-32.
- El-Bialy T, Alhadlaq A, Felemban N, Yeung J, Ebrahim A & Hassan AH. 2015. The effect of light-emitting diode and laser on mandibular growth in rats. *The Angle Orthodontist*, 85, 233-238.
- Farrar J. 1888. *Treatise on irregularities of the teeth and their correction*, New York., International News Company.
- Ferrer J, Tovar I, Martinez P. 2002. Osteoprotegerina y Sistema RANKL/RANK: ¿el futuro del metabolismo óseo?. *Anales de Medicina* 19, 385-388.
- Fleming P, Fedorowicz Z, Johal A, El-Angbawi A & Pandis N. 2015. Surgical adjunctive procedures for accelerating orthodontic treatment (Review). *Cochrane Database of Systematic Reviews* 1-41.
- Flieger J, Karachalios T, Khaldi L, Raptou P & Lyritis G. 1988. Mechanical Stimulation in the Form of Vibration Prevents Postmenopausal Bone Loss in Ovariectomized Rats. *Calcif Tissue Int*, 63, 510-515.
- Florez-Moreno G, Isaza-Guzmán D & Tobón-Arroyave S. 2012. Time-related changes in salivary levels of the osteotropic factors sRANKL and OPG through orthodontic tooth movement. *American Journal of Orthodontics and Dentofacial Orthopedics*, 143, 91-100.

- Fujita S, Yamaguchi M, Utsunomiya T, Yamamoto H & Kasai K. 2008. Low-energy laser stimulates tooth movement velocity via expression of RANK and RANKL. *Orthod Craniofac Res*, 11, 143–155.
- Garlet T, Coelho U & Silva J. 2007. Cytoquine expression pattern in compression and tension sides of the periodontal ligament during orthodontic tooth movement in humans. *Europeana Journal of Oral Sciences*, 115, 355-362.
- Gkantidis N, Mistakidis I & Kouskoura T. 2014. Effectiveness of non-conventional methods for accelerated orthodontic tooth movement: A systematic review and meta-analysis. *Journal of dentistry*, 42, 1300-1319.
- Gluhak-Heinrich J, Pavlin D & Yang W. 2007. MEPE expression in osteocytes during orthodontic tooth movement. *Archives of Oral Biology*, 52, 684-690.
- Guo J, Wang Q, Wai D, Zhou Q, Shi S, Lea D, Shi S, Yens LK. 2015. Visible red and infrared light alters gene expression in human marrow stromal fibroblast cells. *Orthod Craniofac Res*, 18, 50-61.
- Hamed SA, Moussa EMM, Youssef AH, Abd Elhameed MA, & Nasreldin E. 2014. Bone status in patients with epilepsy: relationship to markers of bone remodeling. *Frontiers in Neurology*, 5, 1-7.
- Hassan A, Al-Fraidi A & Al-Saeed S. 2010. Corticotomy-Assisted Orthodontic Treatment: Review. *The Open Dentistry Journal*, 4, 159-164.
- Henneman S, Von Den Hoff J & Maltha J. 2008. Mechanobiology of tooth movement. *European Journal of Orthodontics*, 30, 299-306.
- Herzberg B. 1932. Bone Changes Incident to Orthodontic Tooth Movement in Man. *JADA*, 19, 1777-1788.
- Hofbauer LC, Heufelder AE. 2001. The role of osteoprotegerin and receptor activator of nuclear factor κ B ligand in the pathogenesis and treatment of rheumatoid arthritis. *Arthritis & Rheumatism*, 44, 253–259.
- Huang H, Williams R, Kyrkanides S. 2014. Accelerated orthodontic tooth movement: Molecular mechanisms. *American Journal of Orthodontics and Dentofacial Orthopedics*, 146, 620-632.
- Iglesias-Linares A, Moreno-Fernandez A, Yañez-Vico R, Mendoza-Mendoza A, Gonzalez-Moles M & Solano-Reina E. 2011. The use of gene therapy vs. corticotomy surgery in accelerating orthodontic tooth movement. *Orthod Craniofac Res*, 14, 138–148.
- Jin Q, Cirelli JA, Park CH, Sugai JV, Taba M, Kostenuik PJ, Giannobile WV. 2007. RANKL Inhibition Through Osteoprotegerin Blocks Bone Loss in Experimental Periodontitis. *Journal of Periodontology*, 78, 1300-1308.
- Jing Jong M. 2012. Corticotomy Enhance Orthodontics. University of Adelaide

- Johnson A, Appleton JR. Jr, Rittershofer LS. 1926. Tissue changes involved in tooth movement. *AJO-DO*, 12, 889-898.
- Judex S PS. 2018. Differential Efficacy of 2 Vibrating Orthodontic Devices to Alter the Cellular Response in Osteoblasts, Fibroblasts, and Osteoclasts. *Dose-Response:An International Journal*, 16, 1-8.
- Kalajzic Z, Peluso EB, Utreja A, Dymont N, Nihara J, Xu M, Chen J, Uribe F, Wadhwa S. 2014. Effect of cyclical forces on the periodontal ligament and alveolar bone remodeling during orthodontic tooth movement. *The Angle Orthodontist*, 84, 1-7.
- Kanzaki H, Chiva M, Takahashi I, Haruyama N & Nishimura M. 2004. Local OPG Gene Transfer to Periodontal Tissue Inhibits Orthodontic Tooth Movement. *Journal of Dental Research*, 83, 920-925.
- Katchooi M, Cohanin B, Tai S, Bayirli B, Spierkerman C, Huang G. 2018. Effect of supplemental vibration on orthodontic treatment with aligners: a randomized trial. *Am J Orthod Dentofacial and Orthop*, 153, 336-46.
- Kawasaki K, Takahashi T, Yamaguchi M & Kasai K. 2006. Effects of aging on RANKL and OPG levels in gingival crevicular fluid during orthodontic tooth movement. *Orthod Craniofacial Res*, 9, 137-142.
- Kim SH, Kim I, Jeong DM, Chung Kr, Zadeh H. 2011. Corticotomy-assisted decompensation for augmentation of the mandibular anterior ridge. *AJO-DO*, 140, 720-731.
- Kingsley N. 1880. *Treatise on oral deformities as a branch of mechanical surgery*, New York Appleton.
- Kotiya A, Bayly P & Silva M. 2011. Short-term low-strain vibration enhances chemotransport yet does not stimulate osteogenic gene expression or cortical bone formation in adult mice. *Bone*, 48, 468-475.
- Krishnan V & Davidovitch Z. 2009. *Biological Mechanisms of Tooth Movement*, USA, Wiley-Blackwell.
- Krishnan V, Vijayaraghavan N, Manoharan M, Raj J & Davidovitch Z. 2012. The effects of Drug Intake by Patients on Orthodontic Tooth Movement. *Seminars in Orthodontics*, 18, 278-285.
- Lau E, Al-Dujaili S, Guenther A, Liu D, Wang L & You L. 2010. Effect of low-magnitude, high frequency vibration on osteocytes in the regulation of osteoclast. *Bone*, 46, 1508-1515.
- Lequin RM. 2005. Enzyme Immunoassay (EIA)/Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA). *Clinical Chemistry* 51, 2415–2418.

- Lerner UH. 2012. Osteoblast, Osteoclast and Osteocytes: Unveiling their Intimate-Associated Responses to Applied Orthodontic Forces. *Seminars in Orthodontics*, 18, 237-248.
- Li C, Yang Z, Li Z, Ma Y, Zhang L, Zheng C., Qiu W, Wu X, Wang X, Li H, Tang J, Qian M, Li D, Wang P, Luo J, Liu M 2011. Maslinic acid suppresses osteoclastogenesis and prevents ovariectomy-induced bone loss by regulating RANKL-mediated NF- κ B and MAPK signaling pathways. *Journal of Bone and Mineral Research*, 26, 644–656.
- Limpanichkul W, Godfrey K, Srisuk N & Rattanayatikul C. 2006. Effects of low-level laser therapy on the rate of orthodontic tooth movement. *Orthod Craniofacial Res*, 9, 38-43.
- Lobenne R, Weatherford T & Ross N. 1986. A modified gingival index for use in clinical trials. *Clinical Preventive Dentistry*, 8, 3-6.
- Long H, Pyakurel U, Wang Y, Liao L, Zhou Y & Lai W. 2013. Interventions for accelerating orthodontic tooth movement: A systematic review. *Angle Orthodontist*, 83, 164-171.
- Mercado S, Carreón B, Zapana N 2016. Movimiento dental acelerado mediante fuerzas vibratorias (Acceledent®) en tratamientos ortodóncicos contemporáneos llevada a la práctica diaria. *Rev. Evid. Odontol. Clinic*, 67-71.
- Mérida I. 2011. Movimiento Ortodóntico y sus factores modificantes, Revisión bibliográfica *Revista Latinoamericana de Ortodoncia y Odontopediatría*.
- Miles P, Fisher E. 2016. Assessment of the changes in arch perimeter and irregularity in the mandibular arch during initial alignment with de Acceledent Aura appliance vs no appliance in adolescents: a single-blind randomized clinical trial. *Am J Orthod Dentofacial and Orthop*, 150.
- Morimoto Y, Arai T, Kikuchi M, Nakajima MDS, Nakamura H. 1994. Effect of Low-Intensity Argon Laser Irradiation on Mitochondrial Respiration. *Lasers in Surgery and Medicine*, 15, 191-199.
- Murphy N, Bissada N, Davidovitch Z, Kucska S, Bergman R & Dashe J. 2012. Corticotomy and Tissue Engineering for Orthodontics: A Critical History and Commentary. *Seminars in Orthodontics*, 18, 295-307.
- Nakajima R, Yamaguchi M, Kojima T & Takano M. 2008. Effects of compression force on fibroblast growth factor-2 and receptor activator of nuclear factor kappa B ligand production by periodontal ligament cells in vitro. *Journal of Periodontal Research*, 43, 168-173.
- Nakano Y, Yamaguchi M & Fujita S. 2011. Expression of RANKL/RANK and M-CSF-c-fms in root resorption lacunae in rat molar by heavy orthodontic force. *European Journal of Orthodontics*, 33, 335-343.

- Nakao K, Goto T, Gunjigake K & Konno T. 2007. Intermittent Force Induces High RANKL Expression in Human Periodontal Ligament Cells. *Journal of Dental Research* 86, 623-628.
- Ndip A, Wilkinson FL, Jude EB, Boulton AJM & Alexander MY. 2014. RANKL–OPG and RAGE modulation in vascular calcification and diabetes: novel targets for therapy. *Diabetologia*, 57, 2251–2260.
- Nimeri G, Kau CH, Abou-Kheir NS & Corona R. 2013. Acceleration of tooth movement during orthodontic treatment - a frontier in Orthodontics. *Progress in Orthodontics*, 14, 42.
- Nishijima Y, Yamaguchi M, Kojima T, Aihara N, Nakajima R & Kasai K. 2005. Levels of RANKL and OPG in gingival crevicular fluid during orthodontic tooth movement and effect of compression force on releases from presiodontal ligament cells in vitro. *Orthod Craniofacial Res*, 9, 63-70.
- Nishimura M, Chiba M, Ohashi T, Sato M, Shimizu Y, Igarashi K & Mitani H. 2008. Periodontal tissue activation by vibration: Intermittent stimulation by resonance vibration accelerates experimental tooth movement in rats. *American Journal of Orthodontics and Dentofacial Orthopedics*, 133, 572-583.
- Ogasawara T, Yoshimine Y, Kiyoshima T & Kobayashi I. 2004. In situ expression of RANKL, RANK, osteoprotegerin and cytoquines in osteoclast of rat periodontal tissue. *Journal of periodontal Research*, 39, 42-49.
- Oshiro T, Shiotani A & Shibasaki Y. 2002. Osteoclast Induction in Periodontal Tissue During Experimental Movement of Incisors in Osteoprotegerin-Deficient Mice. *The anatomical Record*, 266, 218-225.
- Pavlin D, Anthony R, Raj J & Gakunga P. 2015. Cyclic loading(vibration) accelerates tooth movement in orthodontic patients: A double-blind, randomized controlled trial. *Seminars in Orthodontics*, 21, 187-194.
- Payam A, Sanjideh P, Emile Rossouw Phillip M, Campbell Lynne A & Buschang OPH. 2010. Tooth movements in foxhounds after one or two alveolar corticotomies. *European Journal of Orthodontics*, 32, 106-113.
- Peptan A, Lopez A, Kopher R & Mao J. 2008. Responses of intramembranous bone and sutures upon in vivo cyclic tensile and compressive loading. *Bone*, 42, 432–438.
- Pilichou A, Papassotiriou I, Michalakakou K, Fessatou S, Fandridis E, Papachristou G, Terpos E. 2008. High levels of synovial fluid osteoprotegerin (OPG) and increased serum ratio of receptor activator of nuclear factor- κ B ligand (RANKL) to OPG correlate with disease severity in patients with primary knee osteoarthritis. doi:10.1016/j.clinbiochem.2008.02.011 *Clinical Biochemistry*, 41, 746–749.
- Rauchenzauner M, Griesmacher A, Tatarcyka T, Haberlandt E, Strasak A, Zimmerhackl Lb., Högl W. 2010. Chronic antiepileptic monotherapy, bone metabolism, and body composition in non-institutionalized children. *Developmental Medicine & Child Neurology*, 52, 1-6.

- Robles Andrade M, Guerrero Sierra C & Hernández Hernández C. 2011. Ortodoncia acelerada periodontalmente: fundamentos biológicos y técnicas quirúrgicas. *Revista Mexicana de Periodontología*, 2, 12-16.
- Rojas R, Fernández A & Solis G. 2016. Tratamiento ortodóntico invisible mediante invisalign: revisión de literatura basada en evidencia. *Rev. Evid. Odontol. Clinic*, 2, 59-65.
- Ryuji S, Shunsuke N, Takenobu I & Kenji S. 2012. Change in initial response of periodontal ligament according to tooth movement speed in periodontal ligament distraction osteogenesis. *Orthodontic Waves*, 71, 115–122.
- Sandstedt C. 1904. Einige Beiträge zur Theorie der Zahnregulierung. *Nordisk Tandläkare Tidskrift*, 5, 236-256.
- Santos R, De Farias M, De Mendonça L, Gonççalves R, Martins M & De Souza M. 2010. Effects of immunosuppressant FK-506 on tooth movement. *Orthod Craniofacial Res*, 13, 153–161.
- Scheven B, Shelton R, Cooper P, Walmsley A & Smith A. 2009. Therapeutic ultrasound for dental tissue repair. *Medical Hypotheses*, 73, 591-593.
- Schwarz M. 1932. Tissue changes incidental to orthodontic tooth movement. *International Journal of Orthodontia. Oral Surgery and Radiography*, 18, 331-352.
- Secchiero P, Corallini F, Pandolfi A, Consoli A, Candido R, Fabris B, Zauli G. 2006. An Increased Osteoprotegerin Serum Release Characterizes the Early Onset of Diabetes Mellitus and May Contribute to Endothelial Cell Dysfunction. *The American Journal of Pathology*, 169, 2236-2244.
- Segura J. 1996. Técnicas instrumentales de análisis en bioquímica, Síntesis.
- Shah A. 2017. Use of vibration in orthodontics. *IJARnD*, 2, 26-30.
- Sicher H, Weinmann JP. 1944. Bone growth and physiologic tooth movement. *American Journal of Orthodontics and Oral Surgery*, 30, 109-132.
- Silness J & Loe H. 1964. Periodontal disease in pregnancy II. Correlation between oral hygiene and periodontal condition. *Acta Odontologica Scandinavica*, 22, 121-135.
- Simon M, Keilig L, Schwarze J, Jung Ba, Bourauele C. 2014. Forces and moments generated by removable thermoplastic aligners: Incisor torque, premolar derotation, and molar distalization. *AJO-DO*, 145.
- Snowdowne K, Parigini R, Leknius C. 1996. Comparison of Ca⁺⁺ indicators to follow real-time changes in cytoplasmic calcium due to mechanical stress in osteoblast like(G292) cells. In: DAVIDOVITCH, Z., NORTON, LA (ed.) *Biological mechanisms of tooth movement and craniofacial adaptation*. 1^oEd ed. Boston.

- Spena R & Turatti G. 2011. Distalización molar superior y ortodoncia acelerada periodontalmente. *Revista Española de Ortodoncia*, 41, 246-254.
- Stöber Blázquez E, Genestra Villalonga P, Molina Coral A & Puigdollers Pérez A. 2010. La corticotomía alveolar selectiva como coadyuvante al tratamiento de ortodoncia: revisión de la literatura. *Revista Española de Ortodoncia*, 40, 215-230.
- Șufaru IG, Solomon S, Păsărin L, Martu-Stefanache MA, Oanță AC, Mârțu I, Ciocan-Pendefunda A, Mârțu S. 2016. Study regarding the quantification of RANKL levels in patients with chronic periodontitis and osteoporosis. *Romanian Journal of Oral Rehabilitation* 8, 42-46.
- Tabari Z, Azadmehr A, Tabrizi MAA, Hamissi J, & Ghaedi FB. 2013. Salivary soluble receptor activator of nuclear factor kappa B ligand/osteoprotegerin ratio in periodontal disease and health. *Journal of Periodontal & Implant Science*, 43, 227-232.
- Teixeira C, Khoo E, Tran J, Chartres I & Liu Y. 2010. Cytokine expression and accelerated tooth movement. *Journal of Dental Research*, 89.
- Thafeed Alghamdi A. 2010. Corticotomy facilitated orthodontics: Review of a technique. *The Saudi Dental Journal*, 22, 1-5.
- Tuula I, Satu A, David R & Timo S. 2012. Gingival Crevicular Fluid, Matrix Metalloproteinases, and Their Bioactive Regulators as Potential Adjunctive Chair-Side Point-of-Care Biomarkers in Orthodontic Tooth Movement. *Seminars in Orthodontics*, 18, 270-277.
- Tyrovola J, Perrea D, Halazonetis D & Dontas I. 2010. Relation of soluble RANKL and osteoprotegerin levels in blood and gingival crevicular fluid to the degree of root resorption after orthodontic tooth movement. *Journal of Oral Science*, 52, 299-311.
- Tyrovola J, Spyropoulos M & Makou M. 2008. Root resorption and the OPG/RANKL/RANK system: a mini review. *Journal of Oral Science*, 50, 367-376.
- Van Leeuwen E, Kuijpers-Jagtman A, Von Den Hoff J, Wagener F & Maltha J. 2010. Rate of orthodontic tooth movement after changing the force magnitude: an experimental study in beagle dogs. *Orthod Craniofacial Res*, 13, 238-245.
- Vansant L, Cadenas De Llano-Pérula M, Verdonck A, Willems G. 2018. Expression of biological mediators during orthodontic tooth movement: A systematic review. *Archives of Oral Biology*, 95, 170-176.
- Woodhouse NR, Dibiasi AT, Johnson N, Slipper C, Grant J, Alsaleh M, Donaldson Ana, Cobourne MTJ. 2015. Supplemental Vibrational Force During Orthodontic Alignment: A Randomized Trial. *Journal of Dental Research*, 94, 682-689.

- Yadav S, Dobie T, Assefnia A, Kalajzik Z, Nanda R. 2016. The effect of mechanical vibration on orthodontically induced root resorption. *Angle Orthodontist*, 86, 740-745.
- Yamaguchi M. 2009. RANK/RANKL/OPG during orthodontic tooth movement. *Orthodontics & Craniofacial Research* 12, 113-119.
- Yamaguchi M, Aihara N, Kojima T & Kasai K. 2006. RANKL Increase in Compressed Periodontal Ligament Cells from Root Resorption. *Journal of Dental Research*, 85, 751-756.
- Yamaguchi M, Fujita S, Yoshida T, Oikawa K, Utsunomiya T, Yamamoto H & Kasai K. 2007. Low-energy laser irradiation stimulates the tooth movement velocity via expression of M-CSF and c-fms. *Orthodontic Waves*, 66, 139–148.
- Yi J, Xiao J, Li H, Li Y, Li X & Zhao Z. 2017. Effectiveness of adjunctive interventions for accelerating orthodontic tooth movement: a systematic review of systematic reviews. *Journal of Oral Rehabilitation*, 44, 636-654.
- Yoshida T, Yamaguchi M, Utsunomiya T, Kato M, Arai Y, Kaneda T, Yamamoto H & Kasai K. 2009. Low-energy laser irradiation accelerates the velocity of tooth movement via stimulation of the alveolar bone remodeling. *Orthodontics & Craniofacial Research*, 12, 289–298.

X. ANEXOS

X. 1 APROBACIÓN DE PROTOCOLO COMITÉ DE ÉTICA



Informe Dictamen Protocolo Favorable

C.P. - C.I. 15/313

06 de julio de 2015

CEIC Hospital Clínico San Carlos

Dra. Mar García Arenillas
Presidenta del CEIC Hospital Clínico San Carlos

CERTIFICA

Que el CEIC Hospital Clínico San Carlos en su reunión del día 17/06/2015, acta 6.2/15 ha evaluado la propuesta del promotor/investigador referida al estudio:

Título: "Medición de RANKL en saliva durante el tratamiento de Ortodoncia Invisalign®, con y sin fuerzas intermitentes mediante AcceleDent®"

Que en este estudio:

- o Se cumplen los requisitos necesarios de idoneidad del protocolo en relación con los objetivos del estudio y están justificados los riesgos y molestias previsibles para el sujeto.
- o Es adecuado el procedimiento para obtener el consentimiento informado.
- o La capacidad del investigador y los medios disponibles son adecuados para llevar a cabo el estudio.
- o El alcance de las compensaciones económicas previstas no interfiere con el respeto de los postulados éticos.
- o Se cumplen los preceptos éticos formulados en la Declaración de Helsinki de la Asociación Médica mundial sobre principios éticos para las investigaciones médicas en seres humanos y en sus posteriores revisiones, así como aquellos exigidos por la normativa legal aplicable en función de las características del estudio.

Es por ello que el Comité **informa favorablemente** sobre la realización de dicho proyecto por la **Dra. Conchita Martín Álvaro** como investigadora principal en la Facultad de Odontología de la Universidad Complutense de Madrid.

Lo que firmo en Madrid, a 06 de julio de 2015



Dra. Mar García Arenillas
Presidenta del CEIC Hospital Clínico San Carlos

X. 2 HOJA DE INFORMACIÓN A PARTICIPANTES Y CONSENTIMIENTO INFORMADO

HOJA INFORMACION A PARTICIPANTES

Título del estudio:

Medición de RANKL en saliva durante el tratamiento de Ortodoncia Invisalign®, con y sin fuerzas intermitentes mediante Acceleident®.

Investigadores:

- ALICIA PÉREZ IDARRAGA
- MARIA CONCEPCIÓN MARTIN ALVARO
- ALBERTO CACHO CASADO
- MIGUEL LACASA LITNER
- FARA YESTE OJEDA
- ELENA BONILLA MORENTE

Centro de Investigación

Estudio Clínico:

- Máster de Periodoncia y de Ortodoncia, Facultad de Odontología, UCM.
- Clínica privada Dr. Miguel Lacasa Litner, Dr. Cacho Casado.

Estudio Microbiológico:

- Servicio de Microbiología Oral, Facultad de Odontología, Universidad Complutense – Madrid

EXPLICACION DEL ESTUDIO

Introducción

Usted está invitado a participar como paciente en un proyecto de investigación. El objetivo del estudio es analizar la relación entre la aplicación de fuerzas vibratorias intermitentes (Acceleident®) y sus posibles efectos en el tratamiento ortodóncico con Invisalign®, midiendo tanto la posible aceleración del movimiento ortodóncico como la

respuesta bioquímica a dicha intervención (los niveles de RANKL y OPG en saliva y fluido crevicular).

En este ensayo clínico, habrá dos grupos de pacientes distribuidos al azar (lista generada aleatoriamente por un ordenador), que recibirán las fuerzas vibratorias en distintos momentos de su tratamiento con Invisalign®: unos al principio del estudio y otros en fases más avanzadas de su tratamiento.

Pretendemos detectar los marcadores bioquímicos mencionados anteriormente, medir su concentración en el fluido gingival crevicular y, finalmente, buscar posibles diferencias entre un grupo en el que se aplica Acceledent® desde el principio y los pacientes a los que se le aplica este dispositivo meses tras iniciar el tratamiento con Invisalign®.

Antecedentes

Existen diferentes estudios que demuestran que la aplicación de fuerzas vibratorias intermitentes en los dientes durante el movimiento de ortodoncia puede favorecer la velocidad del movimiento dentario, siendo posible el acortamiento de la duración de los tratamientos ortodóncicos.

Acceledent® (<http://acceledent.com>) es un dispositivo sencillo, desmontable y que contiene una horquilla, un mango y un cargador. El paciente lo carga y lo sujeta entre los dientes con el alineador en la boca durante 20 min/día con una intensidad de 30 Hz (25g). Al estar sujeto por el paciente, este puede realizar a la vez cualquier otra actividad rutinaria. El dispositivo proporciona una retroalimentación que indicará el uso del dispositivo el tiempo necesario.

Tratamiento

Si decide participar en este estudio, tras asignarle por azar a uno de los dos grupos de estudio, realizaremos lo siguiente:

- Le proporcionaremos un dispositivo Acceledent®, que tendrá que aplicarse siguiendo las instrucciones y tiempos que le indique su doctor.

- Registraremos los cambios en el movimiento dentario que se producen en diferentes citas, tomando impresiones de los dientes en las distintas visitas.
- Para llevar a cabo las mediciones bioquímicas, necesitamos recoger muestras de saliva y del fluido que se encuentra en la encía que rodea los dientes, introduciendo una punta de papel. Este procedimiento es indoloro y lleva pocos minutos. Lo haremos en tres dientes de la arcada superior, en distintos momentos del tratamiento. Además será necesario recoger una muestra de saliva igual de indolora que la anterior.

Todas estas muestras se destruirán una vez analizadas y terminado el estudio. Las muestras biológicas recogidas en este estudio serán tratadas según lo establecido en la Ley 14/2007 de Investigación Biomédica (BOE núm.159 del 4 de julio de 2007). El posible sobrante de muestra no utilizado en el estudio, será eliminado y destruido conforme a dicha normativa (Art. 61).

La duración total del estudio será de 5 meses aproximadamente y al finalizar el tratamiento de ortodoncia. Los controles y toma de muestras se realizarán de forma mensual en las revisiones cotidianas del tratamiento. Además, le solicitaremos rellenar un formulario.

Riesgos

El uso del Acceledent® ha sido probado en estudios previos y demostrando que es seguro para la salud. No se han descrito ni molestias ni daños, como cambios en la sensibilidad de los dientes o alteraciones en la mucosa.

Su uso tópico y ambulatorio permite su interrupción en cualquier momento, si el paciente lo desea. En la información sobre el producto que le proporcionaremos (<http://acceledent.com/wp-content/uploads/2013/04/405-0409-001C-Aura-DFU-Spanish.spread.pdf>), podrá consultar toda la información relativa al mismo, así como permisos nacionales e internacionales para su uso clínico.

De cualquier manera, al final de esta hoja de información tiene la forma de contactar con nosotros en caso de cualquier duda o molestia.

Ventajas por participar

Se ha demostrado que el uso de Acceledent® puede ayudar a que su tratamiento ortodóncico actual actúe de manera más rápida, lo que supondría un acortamiento del tiempo total de tratamiento.

La participación en el estudio y el uso del dispositivo Acceledent® durante su tratamiento con Invisalign® no supondrá ningún coste adicional para usted.

INSTRUCCIONES PARA EL PACIENTE

1. Es necesario mantener una higiene oral correcta durante todo el estudio.
2. Evitar el uso de colutorios orales, y en caso de ser utilizados, anotar el producto y el número de tomas.
3. Evitar la toma de medicación durante el mismo. Si fuera necesario, deberá anotar la medicación tomada y el momento en el que lo ha hecho.

CONFIDENCIALIDAD

Su participación y datos clínicos se tratarán con anonimato y confidencialidad. Si los resultados son publicados en revistas de ámbito científico, todos los datos serán presentados de forma anónima. Los datos personales necesarios para identificarle serán archivados de modo apropiado y no se publicarán. La protección de datos está garantizada en concordancia con *la ley 15/99 de Protección de Datos de Carácter Personal*. Sus resultados se emplearán únicamente con fines de investigación y para el desarrollo de nuevas estrategias de tratamiento, pero nunca con fines comerciales.

La participación en este estudio es voluntaria. Si usted decide no tomar parte del mismo, no afectará a su relación con los profesionales de esta clínica. Es importante para nosotros que usted esté motivado y completamente seguro de su participación antes de aceptar esta invitación.

Si durante el curso del estudio decide detener el tratamiento, tampoco supondrá ningún inconveniente para usted. Sin embargo, recomendamos encarecidamente que, una vez iniciado el tratamiento, se lleve a cabo un control clínico para poder monitorizar los resultados del tratamiento efectuado.

De conformidad con la Ley Orgánica 15/1999 de Protección de Datos de Carácter Personal, le informamos que sus datos serán tratados y guardados en el Departamento de Estomatología IV de la Facultad de Odontología de la Universidad Complutense de Madrid (Profa. Concepción Martín Alvaro, como responsable), con el fin de registrar su participación en este estudio. Puede ejercitar sus derechos de acceso, rectificación, cancelación u oposición en este Departamento.

PREGUNTAS

Siempre tendrá la posibilidad de plantear cualquier duda que le surja, o comunicar cualquier posible efecto adverso. El grupo de investigación puede ser contactado por teléfono o por e-mail (*véanse los datos de contacto más abajo*).

Si tiene alguna pregunta que quiera hacer a alguien que no forme parte del grupo de investigación, le recomendamos que hable con su odontólogo o que contacte con el Comité Ético de Investigación. Si lo desea, puede conservar una copia de este documento.

Coordinadora del estudio: Profa. Conchita Martín Alvaro

Clínica del Máster de Ortodoncia

Facultad de Odontología de la Universidad Complutense de Madrid

Plaza Ramón y Cajal s/n

C. P. 28040 Madrid

+34 91 3941905

conchitamartin@odon.ucm.es

CONSENTIMIENTO INFORMADO

Título del ensayo:

Medición de RANKL y OPG en fluido crevicular durante el tratamiento de Ortodoncia Invisalign®, con y sin fuerzas intermitentes mediante Acceledent®.

Yo, _____
(NOMBRE Y APELLIDOS DEL PACIENTE)

He recibido la hoja de información

He podido hacer preguntas sobre el estudio

He recibido respuesta satisfactoria a mis preguntas

He recibido suficiente información sobre el estudio

He hablado con _____
(NOMBRE Y APELLIDOS DEL INVESTIGADOR)

Comprendo que mi participación es voluntaria.

Comprendo que puedo retirarme del estudio:

1° Cuando quiera

2° Sin tener que dar explicaciones

3° Sin que esto repercuta en mis cuidados dentales.

Presto libremente mi conformidad para participar en el estudio.

_____, ____ de _____ de 201__

Firma del PACIENTE

X. 3 CUESTIONARIO Y CUADERNO DE RECOGIDA DE DATOS**FILIACION – HISTORIA CLÍNICA**

Numero Paciente

Fecha:

Consentimiento:

()

Fecha

¿Se le dio la hoja informativa al paciente? () 1. Si () 2. No

HISTORIA MEDICA

		SI POSITIVO, DESCRIBIR
1. ALERGIAS		
2. CARDIOVASCULAR		
3. METABÓLICO		
4. HEPATICO-RENAL		
5. HEMATOLOGICO		
6. NEUROLOGICO		
7. PSIQUIATRICO		

HISTORIA DENTAL

		SI POSITIVO, DESCRIBIR
1. CARIES		
2. OBTURACIONES		
3. ENDODONCIAS		
4. CORONAS		
5. AGENESIAS		
6. TRAUMATISMOS		
7. ALT. FORMA		

¿USA COLUTORIOS DENTALES? DESCRIBIR TIPO Y FRECUENCIA?

CRITERIOS DE INCLUSION Y EXCLUSION

Numero Paciente:

Fecha:

CRITERIOS DE INCLUSION

La respuesta a las siguientes preguntas debe ser SI en todos los casos. Si en alguno es NO, el paciente no debe ser incluido en el estudio.

- | | |
|--|---------|
| 1. ¿Está la edad del paciente comprendida entre 21-60 años? | SI NO |
| 2. ¿Tiene buena higiene oral (Silness y Loe)? | SI NO |
| 3. ¿Es el paciente colaborador en el uso de las técnicas utilizadas? | SI NO |
| 4. ¿Ha otorgado su consentimiento informado? | SI...NO |

CRITERIOS DE EXCLUSION

La respuesta a las siguientes preguntas debe ser NO en todos los casos. Si en alguno es SI, el paciente no debe ser incluido en el estudio.

- | | |
|--|-------|
| 1. ¿Es usted fumador o ha fumado en los últimos 6 meses? | SI NO |
| 2. ¿Presenta enfermedad periodontal activa con > 4 mm de bolsa periodontal o índices de placa >1 y CPITN>1? | SI NO |
| 3. ¿Ha mantenido tratamiento periodontal en los últimos 6 meses excepto profilaxis profesional? | SI NO |
| 4. ¿Sufre de enfermedades como la epilepsia o la diabetes y no está controlada? | SI NO |
| 5. ¿Presenta algún tipo de patología ósea (artrosis, osteoporosis u otros desórdenes metabólicos con afectación ósea) o enfermedades sistémicas que interfieran en el estudio) | SI NO |
| 6. ¿Toma AINES, bifosfonatos, difenilhidantonínas u otro tipo de medicación de forma crónica? | SI NO |

HOJA CONTROL. VISITA 0 (T0)

Los índices serán en un incisivo inferior que tenga movimiento de vestibuloversión (en caso de que no se produzca este movimiento elegir siempre zona de presión) y un molar inferior sin movimiento (en caso de no ser el 6...será el 7)

Número Paciente:

Fecha:

Marcar con una √ los parámetros medidos:

Índice Gingival

Índice Placa

Muestra GFC

Sangrado al sondaje

Índice Gingival (0 a 4)															
	31			41			42			M-control			45 o 35 C		
V															
L															

Índice de Placa (0 a 3)															
	31			41			42			M-control			45 o 35 C		
V															
L															

Sangrado al sondaje																		
31	31			41			42			M-control			45 o 35 C			47 o 37 C		
V																		
L																		

ESTA HOJA SE RELLENÓ EN CADA UNA DE LAS VISITAS DE LOS
PACIENTES HASTA T4

X. 4 ARTÍCULO

ARTÍCULO ORIGINAL

Medición de RANKL y OPG en fluido crevicular durante el tratamiento de Ortodoncia Invisalign[®], con y sin fuerzas intermitentes mediante Acceledent[®]



Pérez Idarraga, A.¹
 Yeste Ojeda, F.²
 Bonilla Morente, E.³
 Lacasa Litner, M.⁴
 Cacho Casado, A.⁵
 Martín Álvaro, C.⁶

1. Licenciatura de Odontología en Universidad Complutense de Madrid. Máster en Ortodoncia en Universidad San Pablo CEU.
2. Doctora en Odontología. Profesora Máster de ortodoncia y ortopedia Dentomaxilar Institución Universitaria Mississippi y San Pablo CEU.
3. Profesora Máster ortodoncia y ortopedia Dentomaxilar Institución Universitaria Mississippi y San Pablo CEU.
4. Profesor en Máster ortodoncia y ortopedia Dentomaxilar en CEPUME.
5. Profesor Titular de Odontología. Facultad de Odontología. Universidad Complutense de Madrid
6. Profesor Titular de Odontología. Facultad de Odontología. Universidad Complutense de Madrid

CORRESPONDENCIA

Instituciones: Clínica Lacasa Litner, Departamento Estomatología IV de la UCM, clínica Ortom Madrid, Departamento de ortodoncia de Institución Universitaria Mississippi.
 Alicia Pérez Idarraga
 C/César Cort Bolt, Nº9, 6ªdcha. 28055, Madrid

X. 5 CONCESIÓN DE BECA JUAN CANUT SEDO 2017

D. Rafael E. Gallardo Galdón, en calidad de SECRETARIO de la SOCIEDAD ESPAÑOLA DE ORTODONCIA, CERTIFICA que:

La Sociedad concedió la Beca Juan Canut 2017 a la Dra. Alicia Pérez Idarraga, para financiar la presentación de su proyecto de investigación "Medición de RANKL y OPG en fluido crevicular durante el tratamiento de Ortodoncia Invisalign®, con y sin fuerzas intermitentes mediante Acceledent®".

Y para que así conste a los efectos oportunos, firmo la presente en Madrid, a 22 de abril de 2020.

A handwritten signature in blue ink, appearing to be 'R. Gallardo', is written over a faint, circular, textured background.

SECRETARIO DE SEDO



X. 6 GLOSARIO DE SIGLAS Y ABREVIATURAS

IL-1 β - Interleuquina 1 β

TNF- Factor de necrosis tumoral

RANKL- Receptor Activador de factor nuclear Kappa B Ligando

RANKLm- Receptor Activador de factor nuclear Kappa B Ligando Transmembrana

RANKLs- Receptor Activador de factor nuclear Kappa B Ligando Soluble

RANK- Receptor Activador de factor nuclear Kappa B (RANK)

OPG- Osteopregerina

AINES- Antiinflamatorios no esteroideos

ELISA- Enzyme Linked Inmuno Sorbent Assay

DE- Desviación estándar

CGRP- Péptido relacionado con el gen de la calcitonina

VIP- Péptido intestinal vasoactivo

AMPc- Adenosín monofosfato cíclico

PDL- Ligamento periodontal

PMN- Leucocito polimorfonuclear

OC- Osteoclasto

OB- Osteoblasto

OC- Osteocito

ATPasas- Enzimas catalizadoras de adenosín trifosfato

MMP- Metaloproteinasas de la matriz ósea

PTH- Hormona paratiroidea

PG- Prostaglandinas

OAF- Factor activador de osteoclastos

OPN- Osteopontina

OSX- Osterix

OCN- Osteocalcina

TGF- Factor de crecimiento transformante

AOF- Factor activador de osteoclastos

Ca- Calcio

P- Fósforo

UDCF- Unidad formadora de colonia de fibroblastos

COX- Ciclooxygenasa

AST- Aspartato aminotransferasa

LDH- Lactato deshidrogenasa

ALP- Fosfatasa alcalina

ACP- Fosfatasa ácida

TIMP- Inhibidores tisulares de las metaloproteinasas

MEPES- Fosfoglicoproteínas de la matriz extracelular

DMP- Proteínas de la matriz dentinaria

VEGF- Factor de crecimiento endotelial

ATM- Articulación temporomandibular

US- Ultrasonido

LLLT- Láser de baja potencia

LED- Diodo emisor de luz

HSC- Compresión de alta tensión

LSV- Vibración de baja tensión

RAP- Fenómeno de acelerador regional

PAOO- Ortodoncia osteogénica periodontalmente acelerada

CPITN- Necesidad de tratamiento periodontal de la Comunidad

PVS- Polivinilsiloxano

